



**UNIVERSIDAD CARLOS III DE MADRID  
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR**

*Departamento Ciencia e Ingeniería de Materiales*

**PROYECTO FIN DE CARRERA  
INGENIERÍA INDUSTRIAL**

**Rubén Grande Rodríguez**

**DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN  
SENSOR DE PERMEABILIDAD DE  
OXÍGENO EN MEMBRANAS  
MEDIANTE FLUORESCENCIA**

Tutores:

**Berna Serrano Prieto  
Antonio Aznar Jiménez**



*Agradecimientos:*

A mis tutores, sin ellos este proyecto nunca se hubiera podido realizar:

**Berna Serrano Prieto**, por toda la ayuda recibida desde el primer momento, por estar siempre ahí, por hacer más de lo que debiera, por todas las lecciones de fluorescencia y por todo el tiempo que te he “robado”. Muchas gracias Berna.

**Antonio Aznar Jiménez**, por proponerme este proyecto, por presentarme a Berna, por la ayuda recibida y por todo el tiempo dedicado.

Luis Alberto López Muñoz por su ayuda con los planos.

Juan Carlos Nieto Sierra por su ayuda a la hora de adquirir las balas necesarias y las conexiones para las mismas.

Roberto Carlos Hernández Morgado por su inestimable ayuda a la hora de redactar y dar formato al proyecto.

Y en general a todos los que de alguna manera u otra se han visto implicados en este proyecto:

*Dedicatoria:*

Después de más de un año de trabajo y muchas horas de esfuerzo llega la parte más complicada de escribir.

Quisiera dedicar este logro a mis padres **JOSE LUIS** e **ISABEL** que han estado siempre ahí procurando que nunca nos faltara de nada, que siempre me han apoyado y que nunca dejarán de hacerlo. Esto también es mérito vuestro, ya que sin vosotros nunca lo hubiera logrado.

A mi hermano **DIEGO**, del que estoy orgulloso haga lo que haga. Por apoyarme siempre, ayudarme en lo que puede y ser tan buen amigo a la vez que hermano.

A mi hermana **LORENA**, porque a veces una sonrisa suya es lo mejor que te puede pasar en todo el día.

A mi novia **REBECA**, por haber estado siempre ahí, en los buenos y malos momentos, por llevar aguantándome ocho años y porque soy feliz cuando estoy con ella.

A mi abuela **PEPITA**, porque probablemente disfrute más de este momento que yo.

A toda mi familia.

A todos mis amigos y compañeros de universidad, que saben endulzar los momentos amargos y saber hacer que uno se sienta bien consigo mismo.

A todos los profesores que he tenido durante todos estos años muy especialmente a **DON GONZALO** por despertar en mí el amor por las matemáticas y la ciencia.

**Este éxito también es vuestro.**

## ÍNDICE

1	OBJETIVOS DEL PFC Y ESTADO DEL ARTE.....	2
1.1	OBJETIVOS.....	2
1.2	ESTADO DEL ARTE .....	2
1.2.1	Sensores electroquímicos .....	3
1.2.2	Sensores basados en la absorbancia .....	3
1.2.3	Sensores basados en la fluorescencia.....	4
2	MÉTODO DE MEDIDA: PRINCIPIOS TEÓRICOS .....	6
2.1	TÉCNICAS DE ESPECTROSCOPIA .....	6
2.1.1	Longitud de onda.....	7
2.1.2	Intensidad.....	8
2.2	LUMINISCENCIA.....	8
2.3	TIPOS DE TRANSICIONES ELECTRÓNICAS .....	9
2.3.1	Conversión interna .....	10
2.3.2	Cruce entre sistemas y procesos subsiguientes .....	11
2.3.2.1	Cruce entre sistemas.....	11
2.3.2.2	Fosforescencia .....	11
2.3.2.3	Transiciones triplete-triplete.....	11
2.3.3	Fluorescencia .....	12
2.4	QUENCHING .....	13
2.4.1	Aproximación fenomenológica .....	13
2.4.1.1	Quenching dinámico .....	14
2.4.1.2	Quenching estático .....	14
2.4.2	Formación de excímeros y exciplejos .....	15
2.5	ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA.....	16
2.5.1	Consideraciones de uso.....	17
3	PARTE EXPERIMENTAL .....	20
3.1	DISEÑO DE LA PIEZA .....	20
3.1.1	Criterios de selección .....	20
3.1.1.1	Orificio para el intercambio de gases entre cámaras.....	21
3.1.1.2	Forma de la pieza .....	23
3.1.1.3	Material .....	26
3.1.2	Correcciones .....	27
3.1.3	Planos finales .....	28
3.1.3.1	Precámara .....	28
3.1.3.2	Cámara de medida .....	33
3.1.3.3	Tapa de membrana .....	37
3.1.3.4	Tapa de la cámara de medida .....	40

3.1.3.5	Soporte .....	43
3.2	PREPARACIÓN DEL SISTEMA DE MEDIDA.....	47
3.2.1	Preparación del filme.....	47
3.2.1.1	Filme de PMMA .....	48
3.2.1.2	Vidrio silanizado.....	51
3.2.1.3	Polietileno de baja densidad (LDPE) .....	53
3.2.2	Evaluación de los filmes mediante la emisión de fluorescencia.....	56
3.2.2.1	PMMA-Py.....	56
3.2.2.2	Vidrio silanizado-Py .....	57
3.2.2.3	LDPE-Py .....	59
3.2.3	Selección del filme .....	59
3.3	MEMBRANA .....	60
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	62
4.1	COMPROBACIÓN DE NO DEGRADACIÓN .....	62
4.2	ANÁLISIS DE LA VELOCIDAD DE RESPUESTA DEL SENSOR .....	65
4.3	RECTA DE CALIBRADO .....	65
4.4	MEDICIÓN DEL PASO DE OXÍGENO A TRAVÉS DE LA MEMBRANA .....	73
5	CONCLUSIONES Y MEJORAS.....	79
5.1	CONCLUSIONES .....	79
5.2	POSIBLES MEJORAS Y TRABAJOS FUTUROS.....	79
6	BIBLIOGRAFÍA. ....	82
	ANEXO A. PIEZAS FABRICADA.....	84
A.1.	CÁMARA DE MEDIDA Y TAPA MEMBRANA .....	84
A.2.	PRECÁMARA.....	86
A.3.	SOPORTE.....	88
A.4.	TAPA DE LA CÁMARA DE MEDIDA .....	89
A.5.	PIEZA ENSAMBLADA Y EN EL SOPORTE .....	90
	ANEXO B. EQUIPOS UTILIZADOS.....	93
B.1.	FLUORÍMETRO .....	93
B.2.	PRESA DE PLATOS CALIENTES .....	94
	ANEXO C. RECTA DE CALIBRADO .....	96
C.1.	RECTA DE CALIBRADO CON TRES PUNTOS.....	96
C.2.	RECTA DE CALIBRADO CON CUATRO PUNTOS .....	104

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Observación de Stokes.....	9
Figura 2: Diagrama de Perrin-Jablonski.....	10
Figura 3: Espectros de emisión y excitación.....	12
Figura 4: Tipos de <i>quenching</i> estático .....	14
Figura 5: Efecto del excímero .....	15
Figura 6: Esquema del Fluorímetro.....	17
Figura 7: Vistas del orificio para el intercambio de gases.....	21
Figura 8: Vista de las tres piezas originales.....	24
Figura 9: Vista con las cuatro piezas .....	24
Figura 10: Correcciones realizadas en la cámara de medida.....	28
Figura 11: Precámara .....	30
Figura 12: Vista en alzado de la precámara .....	31
Figura 13: Vista en planta de la precámara .....	32
Figura 14: Cámara de medida .....	33
Figura 15: Vista en alzado de la cámara de medida.....	34
Figura 16: Vista en planta de la cámara de medida.....	35
Figura 17: Detalle de la vista en planta de la cámara de medida .....	36
Figura 18: Tapa de membrana.....	37
Figura 19: Vista en alzado de la tapa de membrana .....	38
Figura 20: Vista en planta de la tapa de membrana .....	39
Figura 21: Tapa de la cámara de medida .....	40
Figura 22: Vista en alzado de la tapa de la cámara de medida .....	41
Figura 23: Vista en planta de la tapa de la cámara de medida.....	42
Figura 24: Soporte .....	43
Figura 25: Vista en alzado del soporte.....	44
Figura 26: Vista en perfil del soporte .....	45
Figura 27: Vista en planta del soporte .....	46
Figura 28: PMMA original.....	48
Figura 29: PMMA-Py tras el secado a vacío.....	49
Figura 30: Filme de 1mm de grosor de PMMA-Py.....	51
Figura 31: Vidrio.....	52
Figura 32: LDPE original .....	53
Figura 33: Pieza para conformar LDPE .....	54
Figura 34: Espectro de fluorescencia del PMMA-Py.....	57
Figura 35: Espectro de fluorescencia del vidrio silanizado .....	58
Figura 36: Espectro fluorescencia del LDPE-Py .....	58
Figura 37: Membrana utilizada.....	60
Figura 38: Espectros de fluorescencia tomados cada 20 min .....	63
Figura 39: Espectros de fluorescencia tomados cada 10 min .....	63
Figura 40: Áreas correspondientes a los espectros de fluorescencia tomados cada 20 min .....	64
Figura 41: Áreas correspondientes a los espectros de fluorescencia tomados cada 20 min .....	65
Figura 42: Áreas de los espectros de fluorescencia con O <sub>2</sub> .....	65
Figura 43: Espectro de fluorescencia con nitrógeno.....	66
Figura 44: Evolución áreas con nitrógeno.....	67

Figura 45: Espectros de fluorescencia con mezcla.....	67
Figura 46: Evolución áreas con mezcla .....	68
Figura 47: Espectro de fluorescencia con aire.....	69
Figura 48: Evolución áreas con aire.....	69
Figura 49: Espectros de fluorescencia con oxígeno .....	70
Figura 50: Evolución áreas con oxígeno.....	70
Figura 51: Ajuste de la intensidad de fluorescencia relativa con respecto a la fracción molar de $O_2$ correspondiente al primer ensayo .....	71
Figura 52: Ajuste de la intensidad de fluorescencia relativa con respecto a la fracción molar de $O_2$ utilizando ambos ensayos. ....	72
Figura 53: Ajuste forzado de la intensidad de fluorescencia relativa con respecto a la fracción molar de $O_2$ utilizando ambos ensayos. ....	73
Figura 54: Espectro de fluorescencia del ensayo de paso de oxígeno a través de la membrana .....	74
Figura 55: Evolución intensidad relativa durante el ensayo de paso de oxígeno a través de la membrana .....	75
Figura 56: Línea de tendencia de la evolución de áreas durante el ensayo de oxígeno a través de la membrana .....	75
Figura 57: Representación de los resultados obtenidos .....	76
Figura 58: Espectro fluorescencia con nitrógeno primer ensayo .....	96
Figura 59: Evolución área nitrógeno primer ensayo .....	97
Figura 60: Espectro de fluorescencia con aire primer ensayo .....	97
Figura 61: Evolución del área con aire primer ensayo.....	98
Figura 62: Espectro de Fluorescencia con oxígeno primer ensayo .....	98
Figura 63: Evolución área con oxígeno primer ensayo.....	99
Figura 64: Recta de evolución de la fluorescencia en función de la concentración de $O_2$ primer ensayo.....	99
Figura 65: Espectro de fluorescencia con nitrógeno segundo ensayo .....	100
Figura 66: Evolución área nitrógeno segundo ensayo.....	100
Figura 67: Espectro fluorescencia con aire segundo ensayo .....	101
Figura 68: Evolución área aire segundo ensayo.....	101
Figura 69: Espectro fluorescencia con oxígeno segundo ensayo.....	102
Figura 70: Evolución área con oxígeno segundo ensayo .....	102
Figura 71: Recta de evolución de la fluorescencia en función de la fracción molar de $O_2$ segundo ensayo.....	103
Figura 72: Espectros de fluorescencia con nitrógeno segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos .....	104
Figura 73: Evolución áreas con nitrógeno segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos.....	104
Figura 74: Espectros de fluorescencia con mezcla segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos.....	105
Figura 75: Evolución áreas con mezcla segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos .....	105
Figura 76: Espectros de fluorescencia con aire segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos.....	106
Figura 77: Evolución áreas con aire segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos .....	106



Figura 78: Espectros de fluorescencia con oxígeno segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos.....	107
Figura 79: Evolución áreas con oxígeno segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos .....	107
Figura 80: Ajuste de la intensidad de fluorescencia relativa con respecto a la concentración de O <sub>2</sub> correspondiente al segundo ensayo .....	108





## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tabla de juntas tóricas comerciales de EPIDOR (1ª Parte).....	22
Tabla 2: Tabla de juntas tóricas comerciales de EPIDOR (2ª parte) .....	29
Tabla 3: Permeabilidad a los gases en diferentes materiales.....	52
Tabla 4: Tabla del catálogo comercial de Goodfellow .....	55

## **RESUMEN**

En este Proyecto Fin de Carrera se presenta un estudio del estado de la técnica de sensores de oxígeno. En este estudio se analizan los sensores basados en la fluorescencia como los últimos y más modernos métodos para la medida de concentraciones de oxígeno, resultando estos una alternativa a los tradicionales sensores electroquímicos debido a sus mejores prestaciones y características.

Además se aborda el diseño de un sistema de medida de permeabilidad y el desarrollo de un sensor para la determinación de la permeabilidad de oxígeno en membranas planas, basado en el *quenching* de la fluorescencia.

La fabricación de este sistema incluye el análisis, diseño y construcción de una cámara de medida para la colocación en su interior de la membrana y una guía de luz de fibra óptica conectada a un fluorímetro.

Así mismo se analiza el problema de la selección y fabricación del filme en el cual se incorpora la sonda fluorescente.

Finalmente se realizaron las comprobaciones necesarias para evaluar el funcionamiento del sistema de medida e introducir las mejoras necesarias para su optimización.

## **ABSTRACT**

On this Final Degree Project it is presented a survey of the state of the technique of the oxygen sensors. This project is focused on the sensors based on the fluorescence techniques, being those the latest and most modern methods for the measure of oxygen concentration, being those an alternative of the traditional electrochemical sensors due to their better characteristics.

In addition it is also shown the design of a permeability measure system and the development of a sensor for the determination of the permeability of the oxygen in flat membranes, based on the fluoresced quenching.

The manufacture of this system also includes the analysis, design and fabrication of a measure chamber for the placement inside of both the membrane and an optic fiber light guide connected to a fluorometer.

Furthermore it is also analyzed the issue of selecting and manufacturing a film to which a fluorescent probe is added.

Finally the proper functionality of the system is checked and new proposals for the system optimization are proposed.



## ***CAPÍTULO I***

---

# **OBJETIVOS DEL PFC Y ESTADO DEL ARTE**

# **1 OBJETIVOS DEL PFC Y ESTADO DEL ARTE**

## **1.1 OBJETIVOS**

El objetivo de este Proyecto Fin de Carrera es el diseño y construcción de un sensor de concentración de oxígeno para la medición de la permeabilidad del mismo a través de membranas.

Las membranas semipermeables o selectivamente permeables son de una gran utilidad y su uso, tanto de membranas naturales como de artificiales, está muy extendido en la sociedad actual. Es por esto que el estudio de las mismas es necesario para su innovación y mejora.

En este proyecto se incluye desde el diseño de la cámara de medición, pasando por la construcción de un prototipo de la misma, hasta la obtención de la recta de calibrado y la comprobación de su correcto funcionamiento.

Además se plantearán posibles mejoras del método y futuros trabajos a considerar para el perfeccionamiento del mismo.

## **1.2 ESTADO DEL ARTE**

A continuación se pretende introducir al lector en los diferentes tipos de sensores y dar una visión global del funcionamiento y las ventajas e inconvenientes de cada uno de ellos.

La medición de la cantidad de oxígeno es un factor determinante para las muestras así como para diversos campos incluyendo aplicaciones medioambientales.

Las características ideales de un sensor de oxígeno dependen de la aplicación, siendo las más importantes las siguientes [Cakin,2008]:

- Portabilidad
- Amplitud de rango
- Robustez
- Simplicidad
- Precisión
- Bajo mantenimiento
- Baja frecuencia de calibrado

- Bajo coste
- Respuesta rápida

Los sensores más utilizados en la actualidad pueden clasificarse en tres grupos: electroquímicos, basados en la absorbancia y basados en la fluorescencia.

### **1.2.1 Sensores electroquímicos**

Utilizan el denominado electrodo de Clark, que consiste en la reducción del oxígeno en un electrodo de metal noble, como el oro o el platino, rodeado de una membrana permeable al oxígeno. Estos electrodos miden la corriente resultante de la reducción del oxígeno en la superficie de un electrolito [Cakin,2008].

El uso de estos sensores conlleva diferentes problemas:

- No pueden utilizarse de existir materia orgánica ya que pueden producirse fallos catastróficos en los sensores que conllevan bajos tiempos de vida operacionales.
- Los electrodos de referencia son muy difíciles de miniaturizar, lo que implica un gran volumen de los mismos.
- No son aptos para medir pequeñas cantidades de oxígeno ya que funcionan consumiendo este.

Estas deficiencias en los sensores electroquímicos han provocado que se buscaran alternativas mejores, basadas estas fundamentalmente en métodos ópticos [David,2003].

### **1.2.2 Sensores basados en la absorbancia**

La absorbancia (A) se define como:

$$A = -\log_{10} (I/I_0) \quad (1)$$

Donde “I” es la intensidad de la luz que pasa por una muestra (intensidad de la luz transmitida) e “I<sub>0</sub>” la intensidad de la luz antes de que interaccione con la muestra (intensidad de la luz incidente)

La cantidad de oxígeno existente en una muestra puede ser determinada en función de la absorbancia de la misma a cierta longitud de onda.

El funcionamiento de estos sensores consiste en situar una membrana entre un haz, que emite a una longitud de onda determinada, y un detector. A dicha membrana se agregará una sustancia sensible a la presión parcial.

Mediante la reacción redox de esta sustancia, al interaccionar con el oxígeno, se crea un nuevo compuesto que no absorba la longitud de onda incidente. Debido a la creación de este compuesto varía la cantidad de fotones recibida por el detector y se puede relacionar este parámetro con la concentración de oxígeno.

Para comenzar el procedimiento analítico utilizando estos sensores se debe, en primer lugar, retirar el oxígeno del film, para ello es necesario purgar con un gas inerte, siendo el N<sub>2</sub> el más utilizado [Cakin,2008].

### **1.2.3 Sensores basados en la fluorescencia**

Estos sensores han sufrido un rápido desarrollo en los últimos años como consecuencia de un intento de mejora de los sensores electroquímicos. Los sensores basados en la fluorescencia presentan una mayor sensibilidad y estabilidad [Davis,2009] [David,2003].

La mayor parte de las sustancias fluorescentes presentan el fenómeno de *quenching* (desactivación no radiativa de la fluorescencia) (ver 2.4 QUENCHING), sin embargo sólo algunas de ellas presentan sensibilidad al oxígeno así como tiempos de vida lo suficientemente largos como para poder medirse. La mayoría de los fluoróforos más aptos para esta aplicación son compuestos organometálicos de rutenio y platino ya que tienen un elevado rendimiento cuántico, son muy sensibles al oxígeno y tienen largos tiempos de vida [Martin,1999].

El funcionamiento de estos sensores se detalla en el capítulo 2.MÉTODO DE MEDIDA: PRINCIPIOS TEÓRICOS.

Esta tecnología no es nueva puesto que su uso ya era común en la industria médica, donde se ha venido utilizando durante más de veinte años y ha sido introducida recientemente en la industria de empaquetado de alimentos, incorporando la sonda fluorescente a filmes o membranas y colocando estas junto a la muestra.

Estos sensores presentan grandes ventajas como:

- Bajo mantenimiento
- Alta esperanza de vida
- Alta sensibilidad
- Alta estabilidad

La mayor desventaja de estos sensores es su dependencia de la temperatura, ya que la difusión del oxígeno a través de la membrana y el proceso de *quenching* dependen de esta [Cakin,2008]..



## ***CAPÍTULO II***

---

# **MÉTODO DE MEDIDA: PRINCIPIOS TEÓRICOS**



## 2 MÉTODO DE MEDIDA: PRINCIPIOS TEÓRICOS

En el siguiente capítulo se presentan los principios teóricos básicos de la fluorescencia y el *quenching* con el objetivo de conocer y comprender los mismos y facilitar así la lectura y entendimiento del problema que ahora nos ocupa.

En primer lugar se explicarán brevemente las diferentes clases de espectroscopía para posteriormente detallar los diferentes tipos de transiciones electrónicas. Se prestará especial atención a la fluorescencia ya que será ésta la que se utilizará en el desarrollo del proyecto.

Una vez explicada la fluorescencia se pasará a comentar brevemente el fenómeno de *quenching*.

Finalmente se explicará el funcionamiento general de un fluorímetro así como sus métodos de utilización detallando las características particulares del fluorímetro que se utilizó durante la resolución del citado problema.

### 2.1 TÉCNICAS DE ESPECTROSCOPIA

Las técnicas electroscópicas se basan en procesos de absorción y posterior emisión de energía electromagnética por parte de la materia.

Las técnicas espectroscópicas más utilizadas son las siguientes:

1. Ultravioleta – Visible
2. Infrarroja
3. Resonancia magnética nuclear (RMN)
4. Resonancia paramagnética electrónica (RPE)
5. Raman
6. Fluorescencia y Fosforescencia

Será esta última la que se utilice y, por tanto, la que se desarrolle más en profundidad.

En las dos primeras el fenómeno es similar puesto que se utiliza la radiación que atraviesa la muestra y cómo dicha radiación es absorbida por la misma. La diferencia entre ambas radica en la longitud de onda de cada una de ellas.

En RMN y RPE se analiza la radiación absorbida por la muestra pero, en este caso, en presencia de un campo magnético que orienta los espines atómicos.

Finalmente en fluorescencia y fosforescencia y Raman se analiza la radiación que emite la muestra en todas las direcciones.

Cabe destacar dos magnitudes que definen la radiación que emite o absorbe la muestra: la longitud de onda y la intensidad. Estas magnitudes están relacionadas con la estructura molecular de las especies y, es por esto, que las técnicas espectroscópicas resulten útiles a la hora de determinar las diferentes especies y su concentración en una muestra [Llorente,1991].

### 2.1.1 Longitud de onda

La absorción o emisión de radiación electromagnética por la materia se debe a un cambio de los átomos o moléculas que componen la muestra a un estado de energía distinto.

Si una molécula absorbe un cuanto de energía (fotón) ésta evolucionará a un nivel de energía superior con respecto al que se encontraba. Si, por el contrario, ésta emite un fotón pasará a un estado de energía menor al que se encontraba.

La energía molecular está cuantizada y tiene diversos niveles separados unos de otros por una cierta cantidad de energía fija. Debido a esto la absorción o emisión de fotones se produce cuando esta tiene un valor definido e igual a la diferencia de energía entre dos niveles moleculares.

La energía molecular cuantizada se compone de diversos factores:

$$E = E_{el} + E_{vib} + E_{rot} + E_{mag} \quad (2)$$

$E_{el}$  es la energía de los electrones en sus orbitales

$E_{vib}$  es la energía debida a la vibración de los diferentes átomos que componen la molécula.

$E_{rot}$  es la energía de rotación de la molécula en el espacio

$E_{mag}$  sólo se da en presencia de un campo magnético externo y es la energía de interacción de los momentos magnéticos de los espines nuclear y electrónico con dicho campo magnético.

Cuando se produce un salto entre dos estados o niveles energéticos diferentes existe una diferencia de energía llamada  $\Delta E$  y viene determinada por la longitud de onda ( $\lambda$ ) mediante la siguiente expresión:

$$\Delta E = h \cdot c / \lambda \quad (3)$$

Donde “h” es la constante de Planck y “c” la velocidad de la luz:

$$h = 6,626176 \cdot 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$$

$$c = 2,99792458 \cdot 10^8 \text{ m/s}$$

### 2.1.2 Intensidad

La radiación electromagnética que atraviesa un medio material no permanece constante sino que se va atenuando a su paso. Esto ocurre incluso en las sustancias que no absorben la radiación, ya que las moléculas actúan como difusores y esparcen la radiación en todas direcciones.

Una expresión aproximada de la intensidad y su variación es la siguiente:

$$I' = I_0 \cdot \alpha \cdot c \quad (4)$$

Donde “ $I_0$ ” es la intensidad inicial, “ $c$ ” la concentración de moléculas que disminuyen la intensidad y “ $\alpha$ ” la constante de proporcionalidad asociada a dicha reducción de intensidad [Llorente,1991].

## 2.2 LUMINISCENCIA

La luminiscencia es una emisión de fotones en el ultravioleta, visible o infrarrojo de especies excitadas electrónicamente.

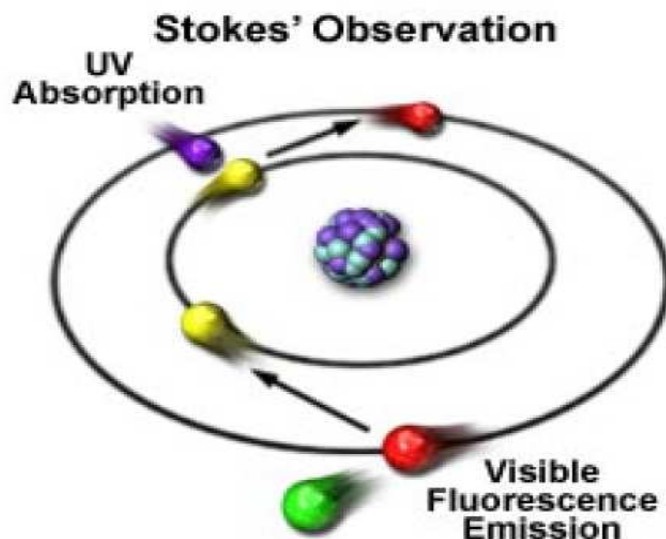
Existen diferentes tipos de compuestos luminiscentes:

1. Compuestos orgánicos
2. Compuestos inorgánicos
3. Compuestos organometálicos

La manera de excitar dichos compuestos consiste en la absorción de un fotón, esta absorción lleva a la molécula que lo absorbe a un estado de excitación. Posteriormente esta molécula vuelve a su estado fundamental emitiendo a su vez un fotón, este proceso de vuelta al estado fundamental se denomina fotoluminiscencia (ver Figura 1) [Abramowitz,2010].

En la fotoluminiscencia la excitación por incidencia de luz UV va inmediatamente seguida de emisión a una energía menor y a una longitud de onda algo superior que la de excitación. Esto se debe a que la molécula que emite el fotón suele sufrir una relajación vibracional (ver Conversión interna), en la que pierde energía, antes de emitir de nuevo el fotón. Por tanto la molécula emite un fotón con menor energía y por consiguiente mayor longitud de onda.

Debido al incremento en la longitud de onda la luz emitida pasa al espectro visible [Valeur,2001].



**Figura 1: Observación de Stokes**

## 2.3 TIPOS DE TRANSICIONES ELECTRÓNICAS

Una transición electrónica consiste en la evolución de un electrón de un orbital de una molécula en estado de no excitación a un orbital libre mediante la absorción de un fotón. En este caso se dice que la molécula se encuentra en estado de excitación [Valeur,2001].

La absorción de un fotón de la energía adecuada puede hacer que un electrón ascienda de un orbital enlazante  $\pi$  a un orbital antienlazante  $\pi^*$ . Aunque el ascenso de un orbital  $\sigma$  a un  $\sigma^*$  es posible la energía necesaria para ello es mucho mayor por lo que no será considerada de aquí en adelante.

Una molécula puede también poseer electrones no enlazantes situadas en heteroátomos. El correspondiente orbital molecular se denomina orbital  $n$ . Estos electrones situados en los orbitales  $n$  pueden ascender, si son excitados por un fotón, a un orbital antienlazante  $\pi^*$ .

La energía necesaria para las transiciones entre los distintos orbitales sigue la siguiente norma:

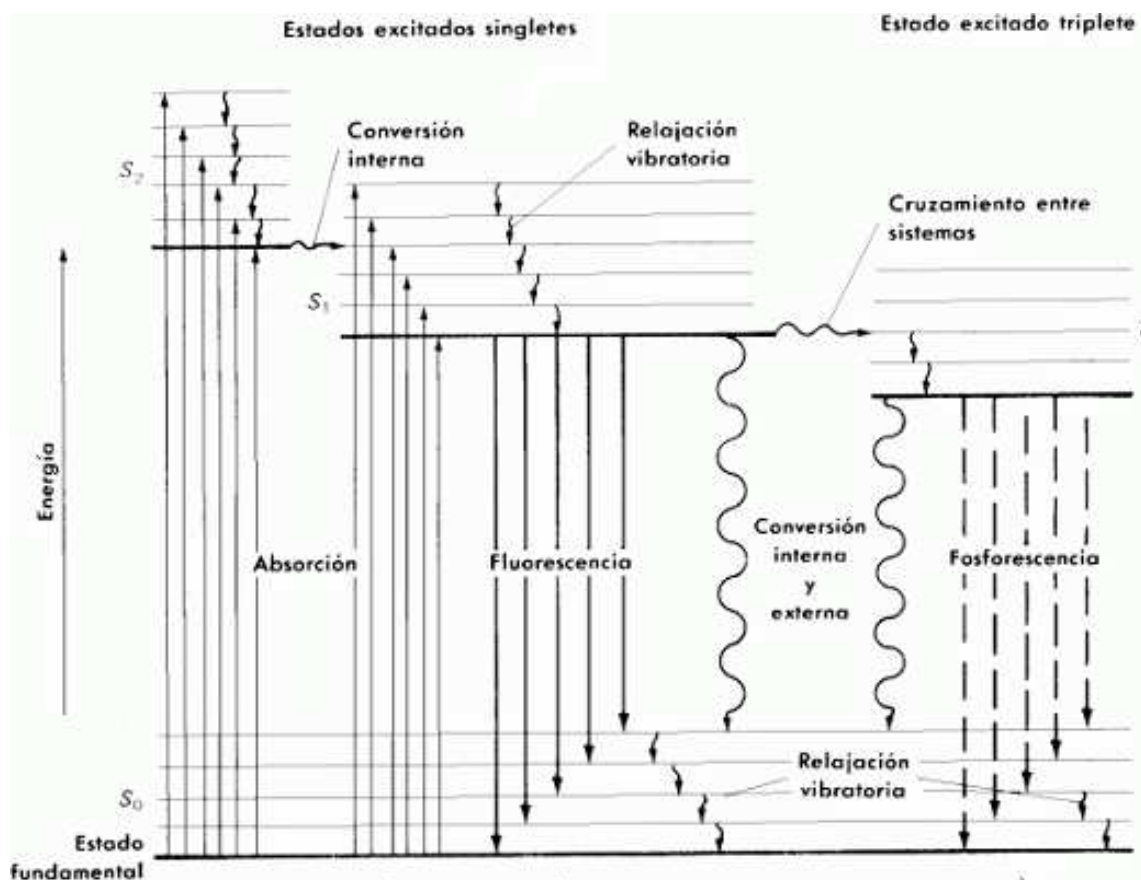
$$n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \pi^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$$

En el diagrama de Perrin-Jablonski (ver Figura 2 ) [Adaptación de Valeur,2001] se pueden observar las diferentes transiciones electrónicas posibles. Existen dos tipos de estados electrónicos, los singletes ( $S_0, S_1, S_2, \dots$ )

y los tripletes ( $T_1, T_2, \dots$ ) y cada uno de ellos tiene asociados diferentes niveles vibracionales.

Cabe destacar que el proceso de absorción es muy rápido ( $10^{-15}$  s) comparado con el resto de procesos.

Las líneas verticales correspondientes a la absorción parten del estado fundamental ( $S_0$ ) ya que la mayor parte de las moléculas se encuentran en este nivel a temperatura ambiente. El proceso de absorción puede llevar una molécula a cualquiera de los estados vibracionales de  $S_1, S_2, \dots$



**Figura 2: Diagrama de Perrin-Jablonski**

### 2.3.1 Conversión interna

Se trata de una conversión no radiativa entre dos estados electrónicos con la misma multiplicidad y cuyo tiempo característico es de  $10^{-11} - 10^{-9}$  s. A este proceso suele seguir una relajación vibracional hasta el menor nivel vibracional dentro del estado electrónico.

Cuando una molécula es excitada a un nivel vibracional mayor que el menor nivel de un estado electrónico, la relajación vibracional hace que dicha molécula alcance el menor nivel vibracional.

Esta relajación vibracional puede darse entre cualquier estado electrónico, sin embargo la diferencia de energía entre los estados  $S_1$  y  $S_0$  es mucho mayor que en los estados electrónicos superiores, por lo que no es tan común como en estos.

Como veremos más adelante la relajación vibracional de  $S_1$  a  $S_0$  compite con procesos como la fluorescencia y la fosforescencia ( $10^{-12}$  -  $10^{-10}$  s).

### **2.3.2 Cruce entre sistemas y procesos subsiguientes**

Este tercer tipo de transición electrónica ocurre entre los estados  $S_1$  y  $T_1$  de las moléculas.

#### **2.3.2.1 Cruce entre sistemas**

Es una transición no radiativa que se produce entre dos niveles vibracionales con la misma energía pertenecientes a estados electrónicos con diferentes multiplicidades.

El cruce entre sistemas puede ser un proceso lo suficientemente rápido como para competir con la fluorescencia o la conversión interna ( $10^{-9}$  -  $10^{-7}$  s).

La probabilidad de que ocurra este fenómeno depende de los estados singlete y triplete de la molécula. Si dicha molécula tiene orbital  $n$  y  $\pi^*$  el cruce entre sistemas ocurre con mayor frecuencia.

#### **2.3.2.2 Fosforescencia**

En altas temperaturas la conversión interna es mucho más rápida que la fosforescencia y esta no se produce, sin embargo, a bajas temperaturas o en medios rígidos la fosforescencia puede competir con la conversión interna.

La fosforescencia es un proceso muy lento, puede ser del orden de segundos, minutos o incluso mayor.

El espectro de este proceso se encuentra desplazado hacia mayores longitudes de onda ya que la energía del menor estado vibracional de  $T_1$  es menor que la de  $S_1$ .

#### **2.3.2.3 Transiciones triplete-triplete**

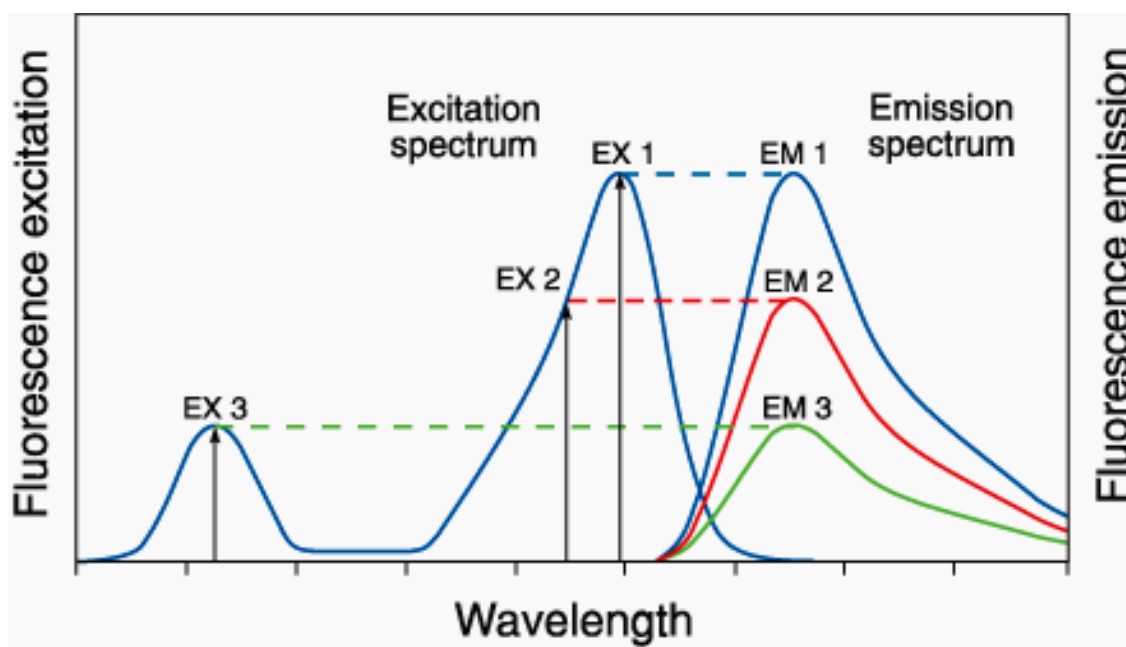
Si una molécula se encuentra en el estado  $T_1$ , puede absorber otro fotón a diferente longitud de onda y evolucionar al estado  $T_2$ .

### 2.3.3 Fluorescencia

La emisión de fotones acompañando el paso del nivel vibracional  $S_1$  al  $S_0$  es un proceso espontáneo que se denomina fluorescencia [Valeur,2001].

El espectro de absorción y de emisión de fluorescencia son simétricos, este último se encuentra desplazado hacia longitudes de onda superiores. Esto se debe a la relajación vibracional y consecuente pérdida de energía.

Podría parecer que el espectro de fluorescencia debería encontrarse desplazado en su totalidad hacia longitudes de onda mayores, sin embargo puede comprobarse que parte de éste solapa con el espectro de absorción (ver Figura 3) [Serrano,2010]. Este defecto de energía que, en principio, pudiera resultar contradictorio se debe a que no todas las moléculas se encuentran en el estado vibracional más bajo del estado fundamental.



**Figura 3: Espectros de emisión y excitación**

La emisión de fotones en la fluorescencia es un proceso tan rápido como el de absorción ( $10^{-10}$  -  $10^{-7}$  s) pero las moléculas permanecen un corto periodo de tiempo en el estado  $S_1$  antes de realizar una transición electrónica.

La fluorescencia es muy sensible a los microentornos, efectos como la polaridad, rigidez, viscosidad o acidez del medio tienen gran influencia en ésta.

Las técnicas de fluorescencia han sido utilizadas en sistemas biológicos, sin embargo en las dos últimas décadas estas técnicas han comenzado a utilizarse como herramientas para las investigaciones en materiales: polímeros. El principal beneficio de estas técnicas es la múltiple interacción que puede



ocurrir entre los estados excitados y su entorno. Utilizando una sonda y procedimiento de inserción en el sistema adecuados (libre o unida covalentemente) se pueden abordar diferentes temas de investigación: miscibilidad de polímeros, dinámica conformacional en solución, difusión en polímeros, caracterización superficial, procesos de relajación en polímeros y monitorización de reacciones de polimerización. Debido a la alta sensibilidad de la fluorescencia, es necesaria muy poca cantidad del cromóforo y por tanto se espera que no perturbe al sistema.

La duración del tiempo en que las moléculas fluorescentes permanecen en el estado excitado proporciona una oportunidad para interacciones con otras moléculas de su entorno más cercano.

El *quenching* Colisional de fluorescencia por oxígeno molecular es un ejemplo excelente. Si un fluoróforo en el estado excitado choca con una molécula de oxígeno, entonces el regreso del fluoróforo al estado fundamental se realiza sin la emisión de un fotón. El resultado es que la intensidad promedio disminuye con la concentración de oxígeno.

En este trabajo se ha utilizado la técnica de fluorescencia como sensor de oxígeno, debido a que ésta es *quencheada* por la presencia de oxígeno.

## 2.4 QUENCHING

Es un proceso mediante el cual se reduce la intensidad de fluorescencia de una sustancia dada [Valeur,2001].

### 2.4.1 Aproximación fenomenológica

Existen diferentes casos que en los que la aparición de una segunda molécula, y la interacción de esta con la molécula excitada, dan lugar a diferentes procesos que entran en competencia con los de relajación propios de la molécula excitada.

1. Si existen muchas más moléculas no excitadas que excitadas y se encuentran a la distancia suficiente para poder interactuar. Se produce el denominado *quenching* estático.
2. Si la cantidad de moléculas no excitadas no es tan superior al de excitadas y se encuentran a distancia suficiente como para poder interactuar se produce un proceso denominado *quenching* dinámico.

Si las moléculas no excitadas son del mismo compuesto que las excitadas puede producirse una unión entre las mismas con su propio espectro y su propio tiempo de vida medio denominado excímero.



### 2.4.1.1 Quenching dinámico

El *quenching* dinámico o colisional ocurre cuando el estado excitado del fluoróforo es desactivado por el contacto con otra molécula en la solución (*quencher*). El fluoróforo retorna al estado fundamental tras la colisión con el *quencher* y por tanto la intensidad de fluorescencia de la sustancia disminuye.

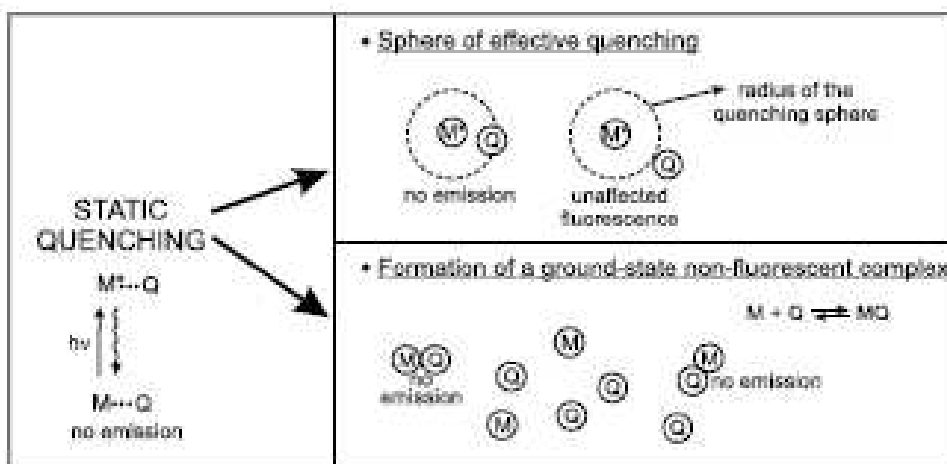
Esta disminución está descrita por la ecuación de Stern-Volmer:

$$I_0 / I = 1 + K_{sv}[Q] \quad K_{sv} = k_q \cdot \tau_0 \quad (5)$$

Donde " $I_0$ " e " $I$ " son las intensidades de fluorescencia en presencia y ausencia de *quencher* respectivamente. " $K_{sv}$ " es la constante de *quenching* de Stern-Volmer, " $k_q$ " es la constante de *quenching* bimolecular, " $\tau_0$ " es el tiempo de vida de fluorescencia en ausencia de *quencher* y  $[Q]$  es la concentración de *quencher*.

### 2.4.1.2 Quenching estático

Se produce *quenching* estático cuando existe una esfera de *quenching* efectivo o cuando se produce un complejo fundamental no fluorescente (ver Figura 4) [Valeur,2001].



**Figura 4: Tipos de *quenching* estático**

#### 2.4.1.2.1 Esfera de *quenching* efectivo

Se produce cuando la molécula excitada y la no excitada no pueden cambiar sus posiciones relativas en el espacio durante el tiempo en el que la molécula permanece excitada.

La intensidad de fluorescencia disminuye con la adición de moléculas no excitadas, sin embargo el decaimiento de la intensidad permanece inalterado.

Se rige por la siguiente expresión:

$$I_0/I = \exp(V_q \cdot N_a [Q]) \quad (6)$$

Donde “ $V_q$ ” es el volumen y “ $N_a$ ” el número de Avogadro.

#### 2.4.1.2.2 Complejo fundamental no fluorescente

Se produce cuando se genera un compuesto entre las moléculas excitadas y las no excitadas.

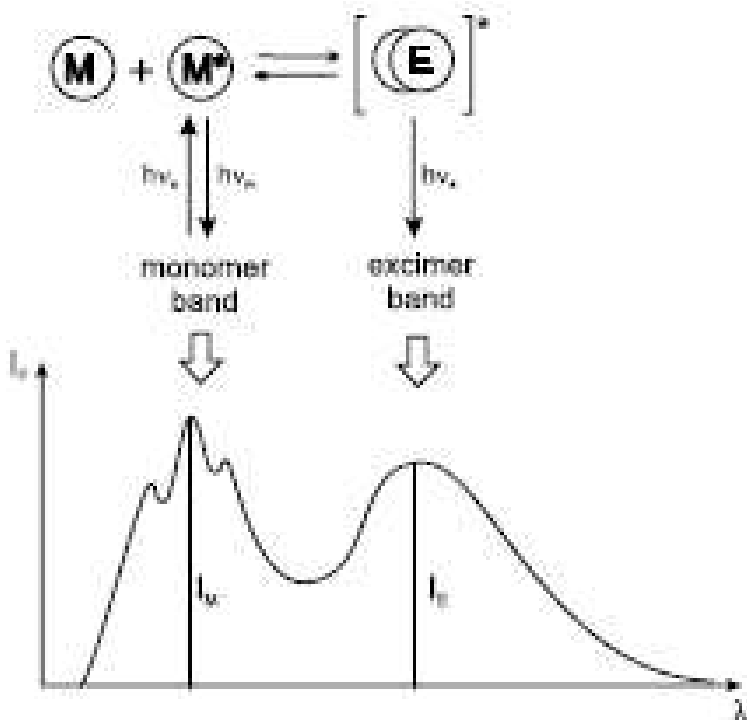
Al igual que en la esfera de *quenching* estático la intensidad de fluorescencia disminuye con la adición de moléculas no excitadas, sin embargo el decaimiento de la intensidad permanece inalterado.

La expresión que rige el *quenching* es la siguiente:

$$I_0/I = 1 + K_s [Q] \quad (7)$$

En caso de no existir evidencia de la existencia de este compuesto siempre se utilizará la expresión correspondiente a la esfera de *quenching* estático.

### 2.4.2 Formación de excímeros y exciplejos



**Figura 5: Efecto del excímero**

Los excímeros son compuestos formados por la colisión de una molécula excitada con otra no excitada del mismo compuesto.

Su aparición reduce la intensidad de fluorescencia y hace aparecer una nueva banda a una longitud de onda mayor (ver Figura 5) [Valeur,2001].

Los excíplejos se forman debido a la colisión entre una molécula excitada y otra no excitada de diferentes compuestos. Suelen aparecer en disolventes no polares.

Su aparición, al igual que los excímeros, reduce la intensidad de fluorescencia y hace aparecer una nueva banda a una longitud de onda mayor.

## **2.5 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA**

Un fluorímetro o espectrofluorímetro es un instrumento que utiliza las propiedades fluorescentes de ciertas partículas para conocer la concentración de las mismas en una muestra [Llorente,1991].

El fluorímetro permite excitar una muestra a una longitud de onda determinada para posteriormente recoger la emisión de fluorescencia a una cierta longitud de onda o todo un espectro. Existen diversas fuentes de excitación como el láser, las lámparas de vapor de mercurio, fotodiodos... en nuestro caso se utilizará una lámpara de xenón que tiene un espectro de emisión continuo y de intensidad constante entre 300 y 800 nm.

Los fluorímetros utilizan luz de alta densidad para poder bombardear con el mayor número de fotones posible para poder excitar el mayor número de moléculas al mismo tiempo.

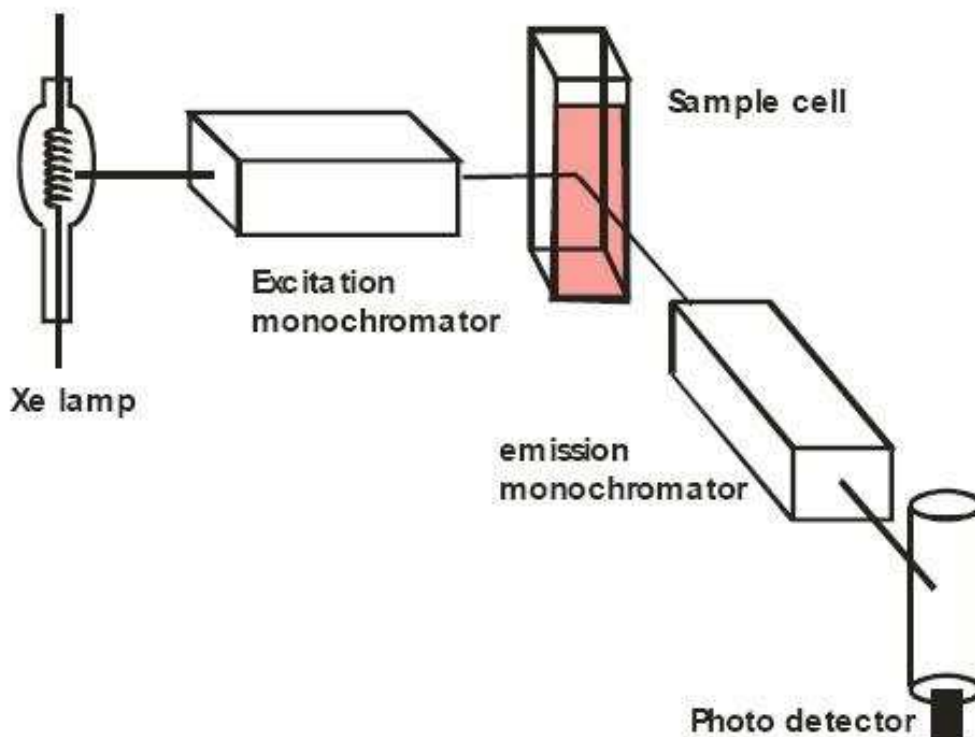
La luz pasa por un filtro o monocromador que permite seleccionar la longitud de onda que más interese.

Posteriormente la luz pasa por la muestra, por un segundo monocromador, que nos permitirá seleccionar la longitud de onda o el espectro que nos interesa obtener, y será recogida por un fotomultiplicador, un fotodiodo o un CCD.

Como se puede observar en la figura (ver Figura 6) [Werther,2009] la medida de fluorescencia de la muestra se recoge a 90° de la fuente de excitación, esto se realiza para intentar minimizar la interferencia producida por la fuente en el sensor y que este recoja exclusivamente los valores de fluorescencia, que se emiten en todas direcciones, de la muestra y no los de emisión de la fuente.

La intensidad de los valores de fluorescencia recogidos en el fluorímetro depende de la concentración de fluoróforo en la muestra a bajas concentraciones. Sin embargo, para altas concentraciones los fluoróforos

comienzan a reaccionar y a formar compuestos no fluorescentes por lo que los valores de intensidad recogidos comienzan a disminuir.



**Figura 6: Esquema del Fluorímetro**

### 2.5.1 Consideraciones de uso

Antes de utilizar un fluorímetro se debe asegurar minimizar las fuentes de luz exteriores, ya que estas pueden variar el resultado de intensidad de fluorescencia. Para ello se apagarán las luces de la sala y se cubrirá la muestra con un objeto opaco.

A continuación se debe regular el paso óptico del fluorímetro, esto se consigue variando la apertura de las rendijas de excitación y emisión entre los diferentes elementos que componen el mismo, dejando así mayor o menor apertura de paso. Durante la realización del experimento y la toma de datos la apertura fue siempre la misma, cuatro vueltas equivalente a 2nm.

Se sabe que el valor de intensidad que mide el fluorímetro no es absoluto sino relativo, es decir, depende de numerosos factores externos tales como: la humedad relativa, la potencia de emisión de la lámpara, la distancia del filme al sensor...

Por ello los valores de intensidad de distintos días, o incluso después de haber cambiado de posición el filme, no son comparables. Por lo que sólo se



compararán aquellas medidas que hayan sido tomadas el mismo día y sin cambio alguno de posición en la sonda.

Otra forma de solucionar dicho problema y poder así comparar las medidas con diferentes condiciones de trabajo consiste en tomar las medidas relativas a un patrón que no se vea afectado por la condiciones de trabajo.



## ***CAPÍTULO III***

---

# **PARTE EXPERIMENTAL**

## **3 PARTE EXPERIMENTAL**

En este capítulo se pretende explicar paso a paso el diseño y optimización del conjunto pieza-membrana, que satisfaga los requisitos expuestos en el Capítulo 1: “OBJETIVOS DEL PFC Y ESTADO DEL ARTE”, y que más adelante se construirá para posteriormente verificar su correcto funcionamiento.

En primer lugar se diseñará la pieza metálica que servirá de doble cámara para el intercambio de gases a través de la membrana y de soporte para la misma. Para ello se utilizará el programa Solid Edge V18.

Posteriormente se preparará el filme con la concentración de cromóforo necesaria para medir la fluorescencia del mismo.

Finalmente, elegiremos una membrana comercial que cumpla con las especificaciones técnicas que estamos buscando.

### **3.1 DISEÑO DE LA PIEZA**

Existe cierta libertad para la planificación del diseño de la pieza, ya que los factores limitantes están más relacionados con el coste de fabricación de la propia pieza que con medidas críticas de la misma.

En un principio la pieza debe ser hueca y disponer de dos cámaras conectadas por un pequeño orificio, en el cual debe introducirse posteriormente la membrana, lugar donde se realizará a continuación el intercambio de los gases. Además, debe disponer de dos aberturas para la entrada de gases, dos para la salida de los mismos y una quinta para introducir la guía de fibra óptica del fluorímetro en la cámara.

La última consideración a tener en cuenta es que la pieza debe ser manipulable desde el interior para intercambiar así la membrana que separa ambas cámaras fácilmente.

#### **3.1.1 Criterios de selección**

El principal factor limitante del diseño consiste en el orificio donde se colocará la membrana, ya que esta tiene unas medidas determinadas.

Una vez salvado este factor limitante se diseñará el resto de la pieza así como la forma de la misma para asegurar su estanqueidad y evitar que se produzcan flujos preferenciales en su interior.

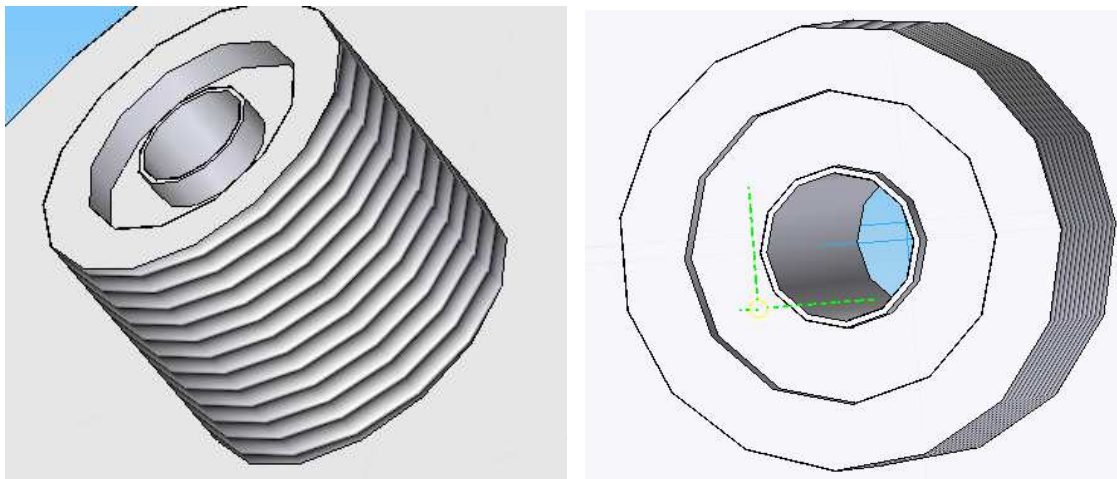
Finalmente se elegirá, entre las diversas posibilidades, el material en el que se fabricará.

### **3.1.1.1 Orificio para el intercambio de gases entre cámaras**

Se trata del principal factor limitante, a partir de este se realizará el diseño restante de la pieza.

Las membranas comerciales que se utilizarán tienen un diámetro aproximado de 14 mm, pero no se puede usar toda esta superficie para el intercambio de gases puesto que, a su vez, se tiene que unir la membrana con la pieza y asegurar la estanqueidad de la misma.

Una de las formas de hacerlo consiste en hacer en el orificio una protuberancia saliente, con un roscado exterior, y colocar sobre este la membrana (ver Figura 7). Entre ambos se sitúa una junta tórica para asegurar la estanqueidad. Sobre la membrana se coloca otra pieza con roscado interior a modo de tapa pero con un agujero pasante del mismo diámetro que el del orificio original. La métrica de dicha tapa deberá ser la misma que la de la protuberancia para poder así enroscarse.



**Figura 7: Vistas del orificio para el intercambio de gases**

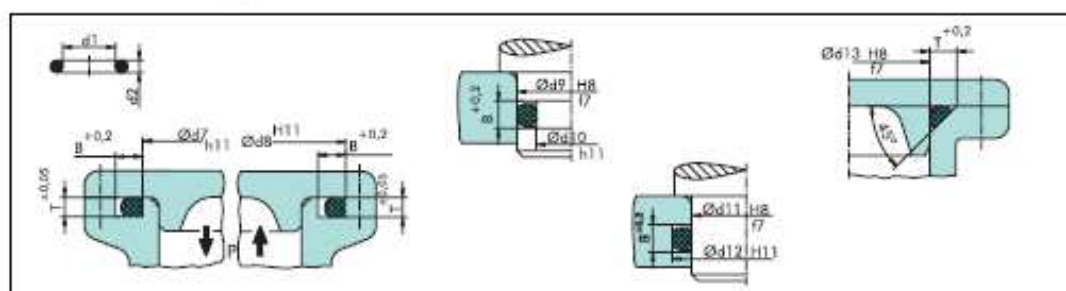
De esta forma la membrana queda sujeta a la pieza y asegurada la estanqueidad en la misma.

El siguiente paso a realizar es el cálculo de la junta tórica a situar entre la membrana y la protuberancia con el roscado exterior. Para ello se observa el catálogo de juntas tóricas estándar, fijándose en la suma del diámetro  $d_7$  con el doble de la anchura (B) de la junta tórica (ver Tabla 1) (Epidor,2010), y se comprueba que existen 4 juntas que satisfacen las necesidades, es decir, el diámetro exterior resultante de las mismas es inferior a 13 mm. Se descartan las dos primeras ya que el diámetro interior es de 3,5 y 4,5 mm respectivamente, por lo que el área efectiva de intercambio de gases sería demasiado pequeña. Las dos restantes son las correspondientes a un diámetro interior de 6,5 y 7,5 mm, en principio la mejor opción sería escoger la de diámetro interno superior para maximizar así el área de intercambio pero en caso de elegir esta el diámetro total sería de 13,7 mm, que aunque seguiría



siendo inferior a 14 mm dificultaría la perfecta colocación de la membrana sin dejar ningún resquicio por el que pudiera pasar algún gas a través de las cámaras sin pasar por la membrana. Finalmente se decide dejar un pequeño margen de seguridad y escoger la tórica de 6,5 mm.

**Tabla 1: Tabla de juntas tóricas comerciales de EPIDOR (1ª Parte)**



Dimensiones		d7	T	B	d8	d9	d10	B	d11	d12	d13	T
d1	d2											
3,3	2,4	3,5	1,8	3,1	7,75	8,00	4,4	3,1	4	7,6	4	3,25
4,3	2,4	4,5	1,8	3,1	8,75	9,00	5,4	3,1	5	8,6	5	3,25
6,3	2,4	6,5	1,8	3,1	10,75	11,00	7,4	3,1	7	10,6	7	3,25
7,3	2,4	7,5	1,8	3,1	11,75	12,00	8,4	3,1	8	11,6	8	3,25
8,3	2,4	8,5	1,8	3,1	12,75	13,00	9,4	3,1	9	12,6	9	3,25
9,3	2,4	9,5	1,8	3,1	13,75	14,00	10,4	3,1	10	13,6	10	3,25
10,3	2,4	10,6	1,8	3,1	14,65	15,00	11,4	3,1	11	14,6	11	3,25
11,3	2,4	11,6	1,8	3,1	15,65	16,00	12,4	3,1	12	15,6	12	3,25
12,3	2,4	12,6	1,8	3,1	16,65	17,00	13,4	3,1	13	16,6	13	3,25
13,3	2,4	13,6	1,8	3,1	17,65	18,00	14,4	3,1	14	17,6	14	3,25
14,3	2,4	14,6	1,8	3,1	18,65	19,00	15,4	3,1	15	18,6	15	3,25
15,3	2,4	15,6	1,8	3,1	19,65	20,00	16,4	3,1	16	19,6	16	3,25
16,3	2,4	16,6	1,8	3,1	20,65	21,00	17,4	3,1	17	20,6	17	3,25
17,3	2,4	17,6	1,8	3,1	21,65	22,00	18,4	3,1	18	21,6	18	3,25
18,3	2,4	18,7	1,8	3,1	22,55	23,00	19,4	3,1	19	22,6	19	3,25
19,3	2,4	19,7	1,8	3,1	23,55	24,00	20,4	3,1	20	23,6	20	3,25
20,3	2,4	20,7	1,8	3,1	24,55	25,00	21,4	3,1	21	24,6	21	3,25
21,3	2,4	21,7	1,8	3,1	25,55	26,00	22,4	3,1	22	25,6	22	3,25
22,3	2,4	22,7	1,8	3,1	26,55	27,00	23,4	3,1	23	26,6	23	3,25
23,3	2,4	23,7	1,8	3,1	27,55	28,00	24,4	3,1	24	27,6	24	3,25
25,3	2,4	25,7	1,8	3,1	29,55	30,00	26,4	3,1	26	29,6	26	3,25
27,3	2,4	27,7	1,8	3,1	31,55	32,00	28,4	3,1	28	31,6	28	3,25
30,3	2,4	30,8	1,8	3,1	34,45	35,00	31,4	3,1	31	34,6	31	3,25
33,3	2,4	33,8	1,8	3,1	37,45	38,00	34,4	3,1	34	37,6	34	3,25
17,2	3	18	2,3	3,9	23,00	23,00	18,4	3,9	18	22,6	18	4,1
18,2	3	19	2,3	3,9	24,00	24,00	19,4	3,9	19	23,6	19	4,1
19,2	3	20	2,3	3,9	25,00	25,00	20,4	3,9	20	24,6	20	4,1
20,2	3	21	2,3	3,9	26,00	26,00	21,4	3,9	21	25,6	21	4,1
21,2	3	22	2,3	3,9	27,00	27,00	22,4	3,9	22	26,6	22	4,1
22,2	3	23	2,3	3,9	28,00	28,00	23,4	3,9	23	27,6	23	4,1
24,2	3	25	2,3	3,9	30,00	30,00	25,4	3,9	25	29,6	25	4,1
25,2	3	26	2,3	3,9	31,00	31,00	26,4	3,9	26	30,6	26	4,1
26,2	3	27	2,3	3,9	32,00	32,00	27,4	3,9	27	31,6	27	4,1
29,2	3	30	2,3	3,9	35,00	35,00	30,4	3,9	30	34,6	30	4,1
30,2	3	31	2,3	3,9	36,00	36,00	31,4	3,9	31	35,6	31	4,1
31,2	3	32	2,3	3,9	37,00	37,00	32,4	3,9	32	36,6	32	4,1
32,2	3	33	2,3	3,9	38,00	38,00	33,4	3,9	33	37,6	33	4,1
34,2	3	35	2,3	3,9	40,00	40,00	35,4	3,9	35	39,6	35	4,1
35,2	3	36	2,3	3,9	41,00	41,00	36,4	3,9	36	40,6	36	4,1
36,2	3	37	2,3	3,9	42,00	42,00	37,4	3,9	37	41,6	37	4,1

Tras calcular las dimensiones de la junta tórica se puede conocer el tamaño del orificio en el que se realizará el intercambio de gases que tendrá que ser inferior a 6,5 mm. Para no limitar excesivamente el área se elige un diámetro de 6 mm. Esto deja una pared de tan sólo 0,25 mm de grosor, lo que posteriormente limitará el material a uno con suficiente resistencia mecánica como para soportar la presión ejercida por la tórica sin deformarse ni romperse.

Posteriormente se calcula la cavidad para alojar esta en el mismo. Dicha cavidad tendrá unas dimensiones de 1,8 mm de profundidad, 6,5 mm de diámetro interior y 12,7 mm de diámetro exterior.

### **3.1.1.2 Forma de la pieza**

Una vez diseñada la parte más limitante de la pieza se procede a completar el diseño de la misma.

En principio se pensó realizar una pieza cúbica en la que estarían alojadas tanto las cámaras como el orificio que las une. Sin embargo, una vez diseñada la primera parte se puede observar como todos los elementos son piezas de revolución, por lo que sería interesante plantearse realizar toda la pieza de este modo.

El único inconveniente de realizar la pieza de forma cilíndrica es que esto conlleva el tener que diseñar a su vez un soporte para la misma, mientras que las ventajas son varias ya que permitiría realizar la pieza íntegramente en un torno, disminuyendo así el coste de fabricación, y el número de uniones en el material y, con ello, el número posibles lugares de fuga de los gases.

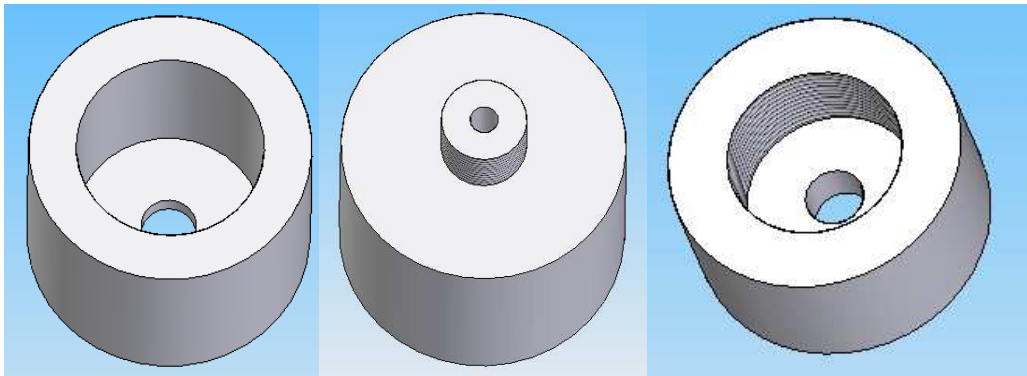
Finalmente se opta por realizar la pieza cilíndrica y diseñar además un soporte para la misma.

En el resto de la pieza existe mayor libertad de elección aunque se intentará seguir una serie de pautas como:

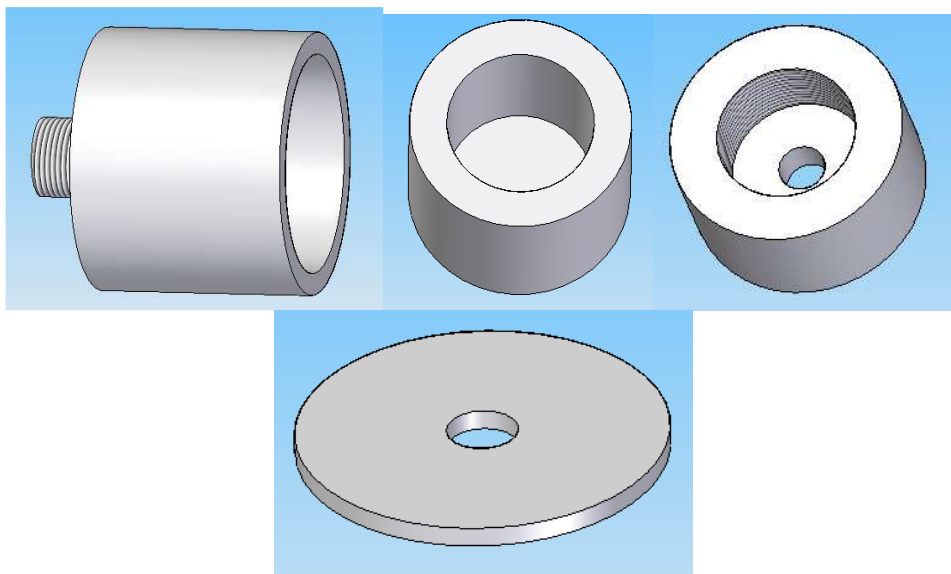
- a) Minimizar el número de piezas y, por tanto, de uniones entre las mismas.
- b) Garantizar la estanqueidad en ambas cámaras.
- c) Evitar que el volumen de la cámara donde se mida la fluorescencia sea demasiado elevado para conseguir así que el valor medido corresponda con el existente en la cámara en dicho instante.
- d) Evitar la existencia de flujos preferenciales en las cámaras para que el gas dentro de la cámara sea lo más homogéneo posible.
- e) Dotar a la pieza de un tamaño adecuado para poderse manipular fácilmente.

Como se comenta anteriormente la pieza ha de ser accesible desde el interior tanto para poder manipular el cambio de membranas como para poder acceder fácilmente a la sonda e intercambiar el filme.

En un principio puede parecer que la mejor solución consiste en fabricar tres piezas independientes (ver Figura 8) una pieza cilíndrica hueca y abierta por un extremo y con un orificio en la base para poder introducir la sonda del fluorímetro en la misma, una segunda con el orificio de intercambio de gases y una tercera más pequeña haciendo las veces de tapa del orificio y con rosca interna. Sin embargo esta solución hace que se genere un flujo preferente desde el orificio hasta la sonda del fluorímetro debido a que la cámara donde se aloje ésta debe tener un volumen reducido. Además existe también el problema de que el tamaño de la pieza cilíndrica hueca no sería lo suficientemente grande como para acceder al interior de la misma con ambas manos y cambiar fácilmente el filme.



**Figura 8: Vista de las tres piezas originales**



**Figura 9: Vista con las cuatro piezas**

Es por esto que se opta por un diseño de cuatro piezas exactamente igual que el anterior (ver Figura 9) pero situando un fondo extraíble o tapa en la pieza que contiene el orificio para el intercambio de los gases. Esta tapa tiene una abertura que es donde se introducirá la sonda del fluorímetro para la medición de la fluorescencia. Gracias a esto se consigue evitar los problemas anteriormente citados.

Una vez conocidos el número de piezas se procede a diseñar las uniones entre las mismas. La manera más simple consiste en uniones atornilladas, sin embargo existen dos cuestiones a considerar: Por un lado se necesita espacio para poder atornillar las piezas unas a otras y por otro los tornillos no aseguran la estanqueidad.

Para ello distinguimos las tres uniones que tendremos entre piezas:

*1. Unión tapa membrana - pieza con el orificio de intercambio de gases*

Esta unión ya está diseñada y consiste en una unión roscada con junta tórica.

*2. Unión pieza con el orificio de intercambio de gases – tapa medida fluorescencia*

En este caso basta con diseñar una unión atornillada frontal junto con una junta tórica. El único inconveniente reside en que las paredes de la pieza tienen que ser lo suficientemente gruesas como para que un tornillo se pueda alojar en ellas.

*3. Unión pieza cilíndrica – pieza con el orificio de intercambio de gases*

Esta unión parece en un principio la más problemática puesto que no hay espacio suficiente como para poner una unión atornillada.

Para solventar dicho problema basta con hacer la parte en contacto con ambas piezas un poco más ancha para poder introducir un tornillo pasante. Posteriormente, y haciendo uso de la tabla de juntas tóricas estándar, se diseñará una con un diámetro inferior al de las uniones atornilladas.

Además de las anteriores uniones existe una última unión entre la tapa de la medida de fluorescencia y la propia guía de fibra óptica del fluorímetro. Esta, como se verá posteriormente en el Capítulo 4: “RESULTADOS Y DISCUSIÓN”, tiene forma cilíndrica.

Este caso es especial ya que el fluorímetro, y por tanto la sonda, es un elemento común de la universidad y no se puede adherir permanentemente ni realizarle orificios para atornillar. Además, al igual que el resto de las uniones de la pieza, debe garantizar la estanqueidad.

Para solventar este problema se procede a realizar un orificio en la parte central de la tapa con el mismo diámetro que el de la guía de fibra óptica.

Dentro de ese orificio se colocará una junta tórica, para lo cual se realizará una hendidura con las dimensiones correspondientes a la tórica estándar que se utilizará.

Al aplicar esta solución surge el inconveniente de que la guía de fibra óptica no pasa fácilmente a través del orificio debido a la tórica. Así mismo, tampoco podemos hacer la hendidura de la tórica más profunda porque perdemos la estanqueidad. Por tanto para resolver dicha cuestión se decide lubricar la sonda con aceite o grasa.

Una vez diseñado el número de piezas, la forma de estas y las uniones entre las mismas sólo falta dotar de dimensiones al diseño.

Entre las múltiples posibilidades existentes, que respetan las condiciones, se escogieron unas arbitrarias que se muestran en el punto 3.1.3 "Planos finales".

A continuación se diseñan los orificios para la entrada y salida de gases en cada una de las cámaras. Para evitar flujos preferenciales se evita situar los orificios enfrentados y que tengan dirección radial. Para obtener el mismo estándar que los equipos del laboratorio se utiliza rosca BSP 1/8 gas.

Finalmente se diseña el soporte para la pieza. El objetivo de este es evitar que la pieza ruede, ya que al ser la pieza cilíndrica y no tener un lugar de apoyo rodaría por la superficie.

La forma más sencilla de realizar esto es diseñar un soporte plano con dos apoyos en forma de U con el mismo radio que el exterior de la pieza y apoyar en ellos ésta. Posteriormente con cuatro tornillos, dos en cada apoyo, se fija la pieza y se evitan desplazamientos de la misma.

### **3.1.1.3 Material**

Una vez realizado el diseño se debe seleccionar el material en el que se realizarán las piezas.

Las dos mejores opciones son metal y plástico. El plástico tiene la ventaja de ser más ligero y barato, pero la realización de una pieza como esta en plástico implica la realización de un molde previo en metal, ya que debería realizarse por inyección. La fabricación de este molde elimina la ventaja del coste y, como sólo se realizará una pieza, no merece la pena fabricar un molde ni, por tanto, hacerla de plástico por lo que la realizaremos en metal, que es más resistente y aguanta mejor las presiones.

Al trabajar con oxígeno las primeras opciones son aluminio y acero inoxidable para evitar la oxidación del material. El aluminio es un material más ligero que el acero inoxidable, sin embargo es más costoso y su resistencia mecánica es inferior. En principio la pieza no va a ser sometida a sobrepresiones pero si es interesante que el material sea resistente en el

orificio que une ambas cámaras puesto que la pared en ese punto es de tan sólo 0,25 mm y está sometido al esfuerzo de la junta tórica al expandirse.

Debido a esto el material final seleccionado para el diseño de la cámara será acero inoxidable.

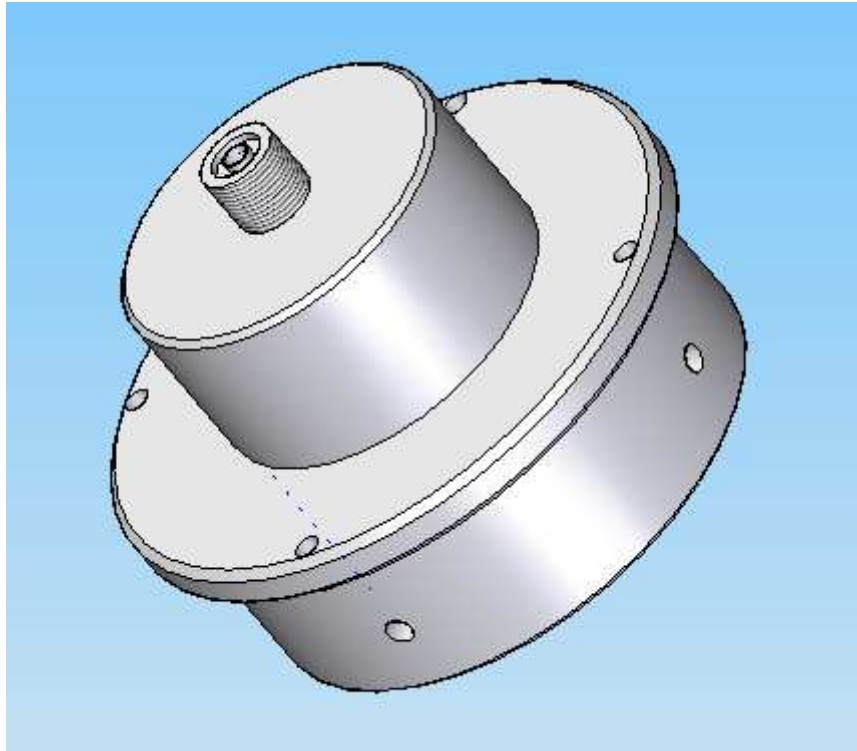
Para diseñar el soporte se ha de tener en cuenta que la pieza ya es de por sí demasiado pesada, por lo que la mejor opción será realizarlo en aluminio ya que no tiene que resistir elevados esfuerzos mecánicos.

### **3.1.2 Correcciones**

Tras llevar los planos al taller de mecanizado se deciden realizar algunas correcciones en los mismos.

1. Los taladros en las alas de las piezas (lugar donde se unen las dos piezas de mayor tamaño) no pueden ser pasantes y roscados puesto que en este caso sería imposible que el tornillo pudiera roscar ambas. En lugar de ello se realiza el primer agujero pasante y el segundo roscado, de esta forma queda resuelto el problema.
2. Los orificios de entrada y salida de gases sólo pueden tener dirección radial, ya que de otro modo sería imposible enroscarles las válvulas a las que se conectarán los tubos.
3. Se colocaron redondeos y chaflanes a 45° para evitar cortes durante la manipulación del material y eliminar tensiones en la pieza.
4. A la pieza de la cámara de medida se le añade una pared más alta (ver Figura 10) para aumentar el contacto con la pared de la precámara y facilitar así la labor de estanqueidad de la junta tórica, ya que de no existir podría ocurrir que no quedara toda la pieza estanca debido a que el esfuerzo de unión de los tornillos no sería homogéneo en la pieza.
5. A la pieza tapa de la membrana se le realiza un moleteado para facilitar así que se puede desenroscar fácilmente sin ayuda de herramientas.





**Figura 10: Correcciones realizadas en la cámara de medida**

### **3.1.3 Planos finales**

A continuación se muestran los planos y las vistas de cada una de las piezas fabricadas así como los cálculos necesarios para el diseño de las juntas tóricas.

#### **3.1.3.1 Precámara**

Se trata de la pieza donde se introducirá el gas que posteriormente pase a través de la membrana hasta la cámara de medida de fluorescencia (ver Figura 11).

Se une a la cámara de medida de fluorescencia mediante una unión atornillada por lo que es necesario colocar una junta tórica que mantenga ambas cámaras estancas.

La junta tórica debe tener un diámetro superior al diámetro interno de la pieza, que, en este caso, son 80 mm (ver Figura 12 y Figura 13) e inferior a 130 mm, que es el diámetro donde se encuentran los tornillos. Observando la hoja de catálogo de Epidor (ver Tabla 2) [Epidor,2010] se puede comprobar que hay varias que cumplen los requisitos, en este caso se utilizará la de 100 mm.

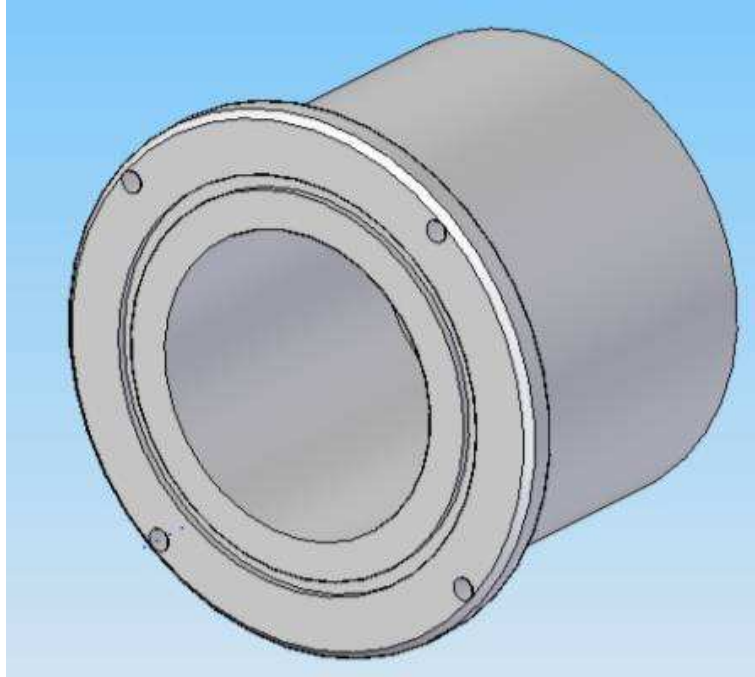
Tabla 2: Tabla de juntas tóricas comerciales de EPIDOR (2ª parte)

Technical drawings of O-rings showing cross-sections and dimensions. The drawings include:
 

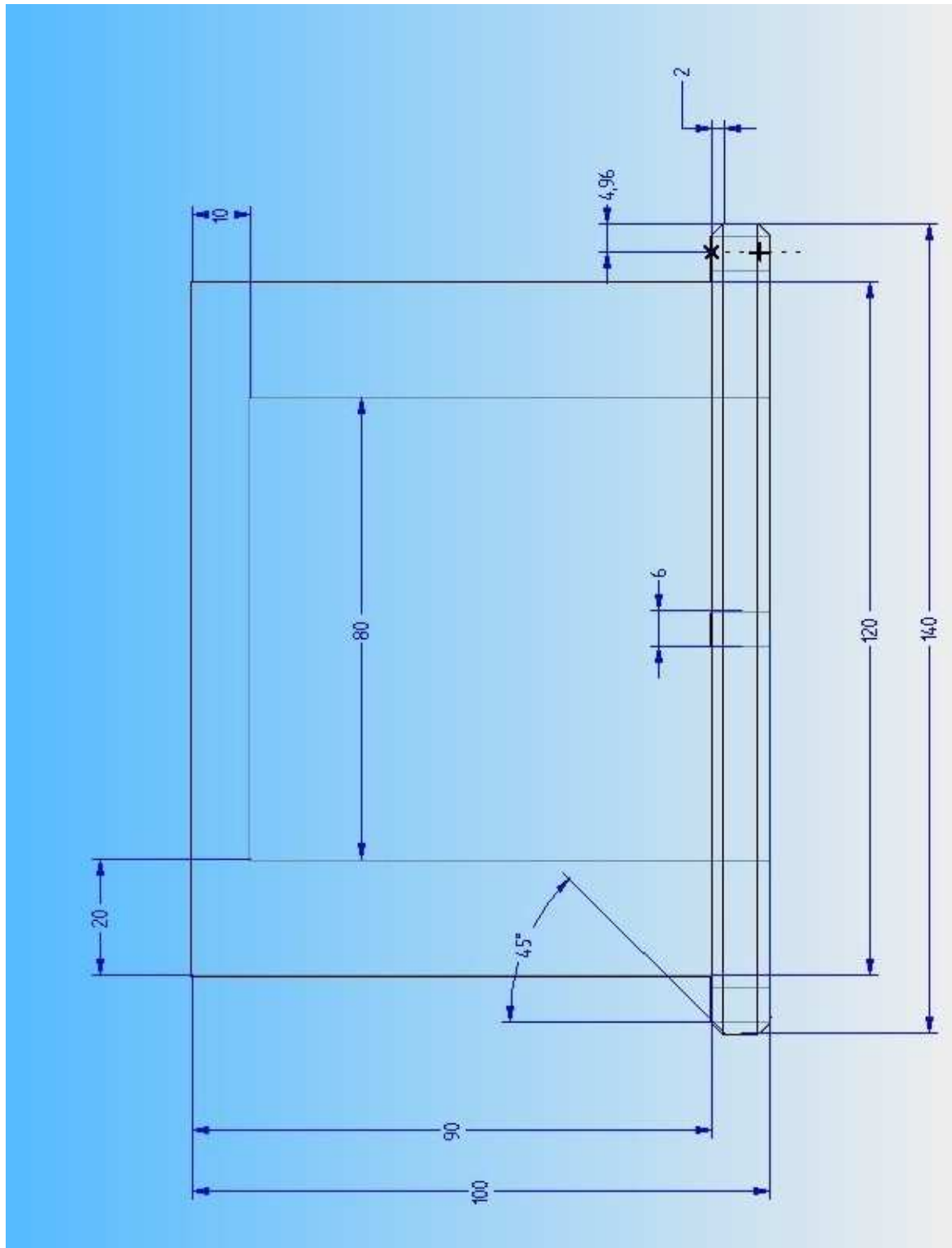
- A small O-ring with dimensions d1 and d2.
- A cross-section of an O-ring with dimensions d7, T, B, d8, and H11.
- A cross-section of an O-ring with dimensions d9, d10, B, d11, d12, and H11.
- A cross-section of an O-ring with dimensions d13, H8, T, and H11.

Dimensiones		d7	T	B	d8	d9	d10	B	d11	d12	d13	T
d1	d2											
37,2	3	38	2,3	3,9	43,00	43,00	38,4	3,9	38	42,6	38	4,1
39,2	3	40	2,3	3,9	45,00	45,00	40,4	3,9	40	44,6	40	4,1
41,2	3	42	2,3	3,9	47,00	47,00	42,4	3,9	42	46,6	42	4,1
42,2	3	43	2,3	3,9	48,00	48,00	43,4	3,9	43	47,6	43	4,1
44,2	3	45	2,3	3,9	50,00	50,00	45,4	3,9	45	49,6	45	4,1
45,2	3	46	2,3	3,9	51,00	51,00	46,4	3,9	46	50,6	46	4,1
46,2	3	47	2,3	3,9	52,00	52,00	47,4	3,9	47	51,6	47	4,1
49,5	3	50	2,3	3,9	55,00	55,00	50,4	3,9	50	54,6	50	4,1
50,2	3	51	2,3	3,9	56,00	56,00	51,4	3,9	51	55,6	51	4,1
54,5	3	55	2,3	3,9	60,00	60,00	55,4	3,9	55	59,6	55	4,1
55,2	3	56	2,3	3,9	61,00	61,00	56,4	3,9	56	60,6	56	4,1
56,2	3	57	2,3	3,9	62,00	62,00	57,4	3,9	57	61,6	57	4,1
57,2	3	58	2,3	3,9	63,00	63,00	58,4	3,9	58	62,6	58	4,1
59,5	3	60	2,3	3,9	65,00	65,00	60,4	3,9	60	64,6	60	4,1
60,2	3	61	2,3	3,9	66,00	66,00	61,4	3,9	61	65,6	61	4,1
62,2	3	63	2,3	3,9	68,00	68,00	63,4	3,9	63	67,6	63	4,1
64,5	3	65	2,3	3,9	70,00	70,00	65,4	3,9	65	69,6	65	4,1
67,2	3	68	2,3	3,9	73,00	73,00	68,4	3,9	68	72,6	68	4,1
69,5	3	70	2,3	3,9	75,00	75,00	70,4	3,9	70	74,6	70	4,1
74,5	3	75	2,3	3,9	80,00	80,00	75,4	3,9	75	79,6	75	4,1
79,5	3	80	2,3	3,9	85,00	85,00	80,4	3,9	80	84,6	80	4,1
84,5	3	85	2,3	3,9	90,00	90,00	85,4	3,9	85	89,6	85	4,1
89,5	3	90	2,3	3,9	95,00	95,00	90,4	3,9	90	94,6	90	4,1
94,5	3	95	2,3	3,9	100,00	100,00	95,4	3,9	95	99,6	95	4,1
99,5	3	100	2,3	3,9	105,00	105,00	100,4	3,9	100	104,6	100	4,1
104,5	3	105	2,3	3,9	110,00	110,00	105,4	3,9	105	109,6	105	4,1
109,5	3	110	2,3	3,9	115,00	115,00	110,4	3,9	110	114,6	110	4,1
114,5	3	115	2,3	3,9	120,00	120,00	115,4	3,9	115	119,6	115	4,1
119,5	3	120	2,3	3,9	125,00	125,00	120,4	3,9	120	124,6	120	4,1
124,5	3	125	2,3	3,9	130,00	130,00	125,4	3,9	125	129,6	125	4,1
129,5	3	130	2,3	3,9	135,00	135,00	130,4	3,9	130	134,6	130	4,1
134,5	3	135	2,3	3,9	140,00	140,00	135,4	3,9	135	139,6	135	4,1
139,5	3	140	2,3	3,9	145,00	145,00	140,4	3,9	140	144,6	140	4,1
142,5	3	142	2,3	147,00	147,00	142,4	3,9	142	146,6	142	4,1	
144,5	3	145	2,3	3,9	150,00	150,00	145,4	3,9	145	149,6	145	4,1
35,2	5,7	36	4,7	7,4	46,00	46,00	36,8	7,4	36	45,2	36	7,85
36,2	5,7	37	4,7	7,4	47,00	47,00	37,8	7,4	37	46,2	37	7,85
37,2	5,7	38	4,7	7,4	48,00	48,00	38,8	7,4	38	47,2	38	7,85
39,2	5,7	40	4,7	7,4	50,00	50,00	40,8	7,4	40	49,2	40	7,85
41,2	5,7	42	4,7	7,4	52,00	52,00	42,8	7,4	42	51,2	42	7,85
44,2	5,7	45	4,7	7,4	55,00	55,00	45,8	7,4	45	54,2	45	7,85

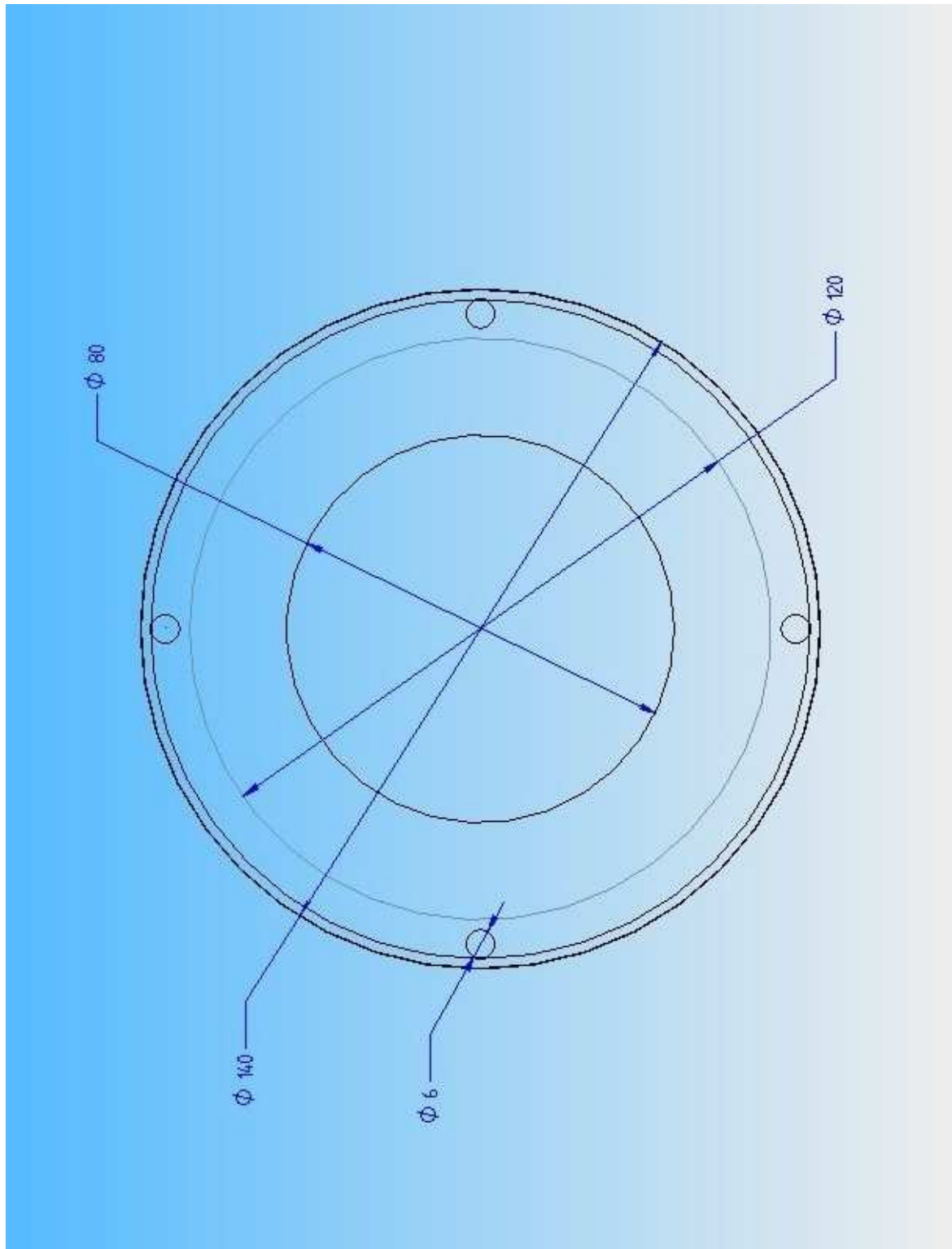




**Figura 11: Precámara**



**Figura 12: Vista en alzado de la precámara**



**Figura 13: Vista en planta de la precámara**

### **3.1.3.2 Cámara de medida**

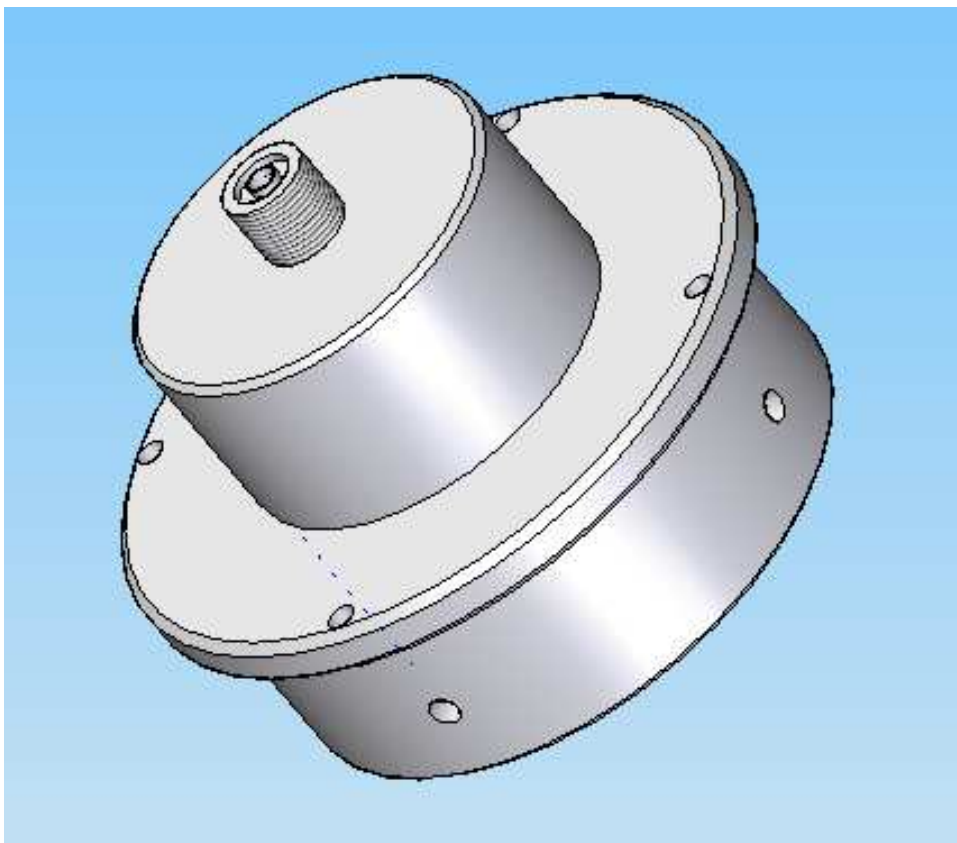
Se trata de la pieza que contiene la membrana a través de la cual pasarán los gases y en la que se encontrará la sonda del fluorímetro (ver Figura 14).

Se une a la cámara de medida de fluorescencia mediante una unión atornillada, la junta tórica ha sido calculada en el apartado anterior.

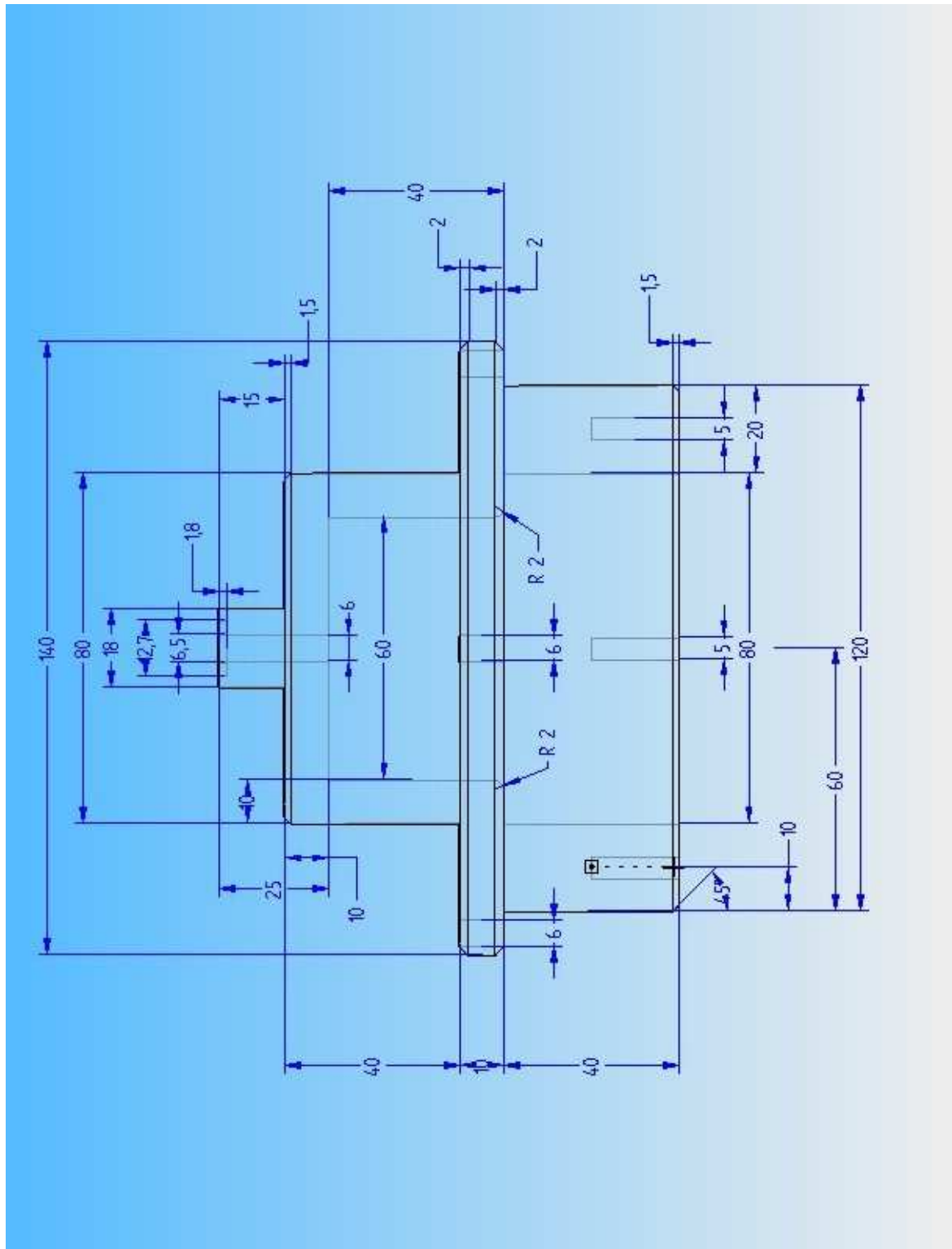
Además tiene otra junta tórica en el lugar donde se encuentra la membrana (ver Figura 15, Figura 16 y Figura 17), ésta ha sido calculada anteriormente en el punto 3.1.1.1 Orificio para el intercambio de gases entre cámaras

Finalmente también se une a la tapa de la cámara de medida de fluorescencia mediante una unión atornillada, la junta tórica se calcula en el apartado siguiente.

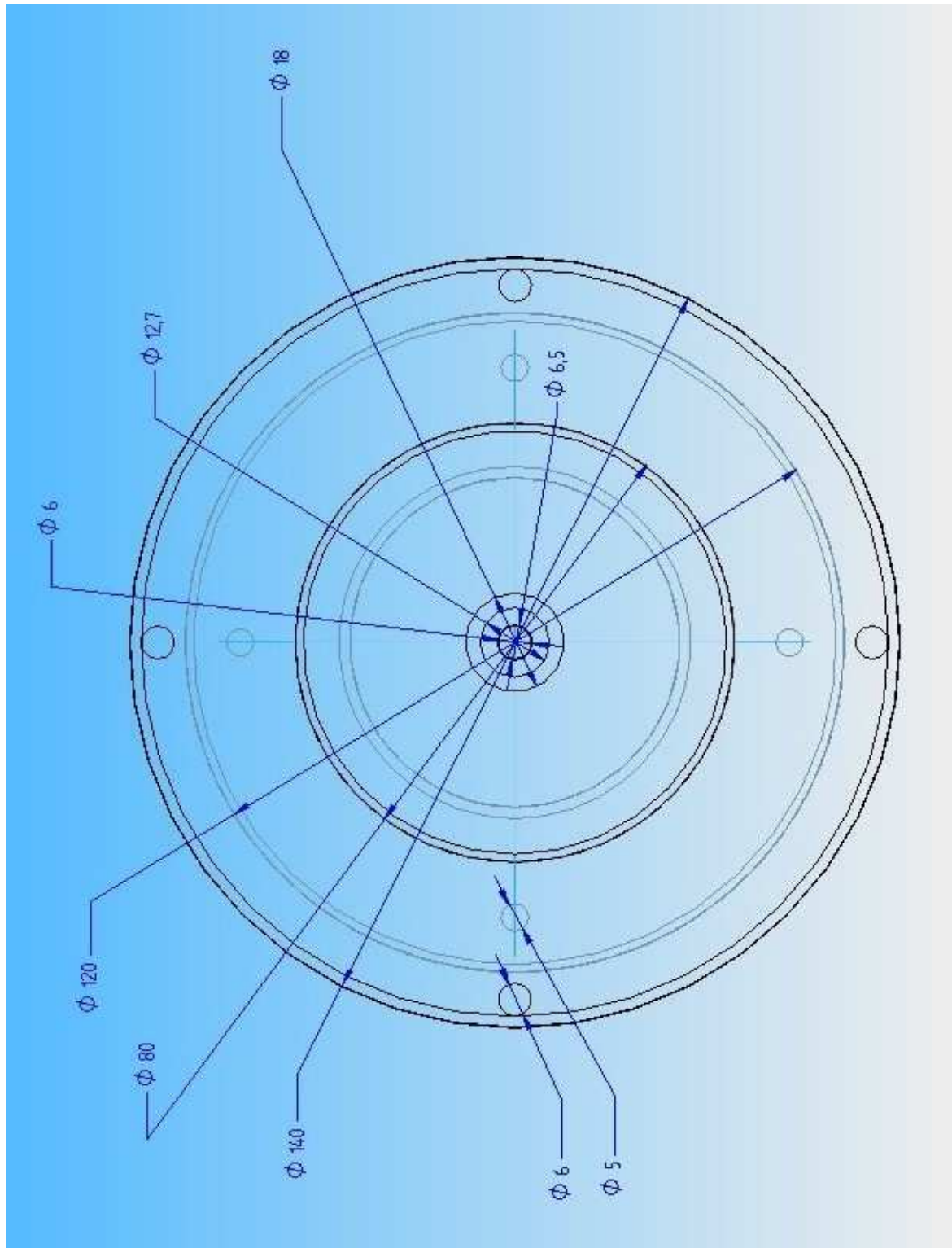
La rosca externa de la parte donde se coloca la membrana es de métrica M18.



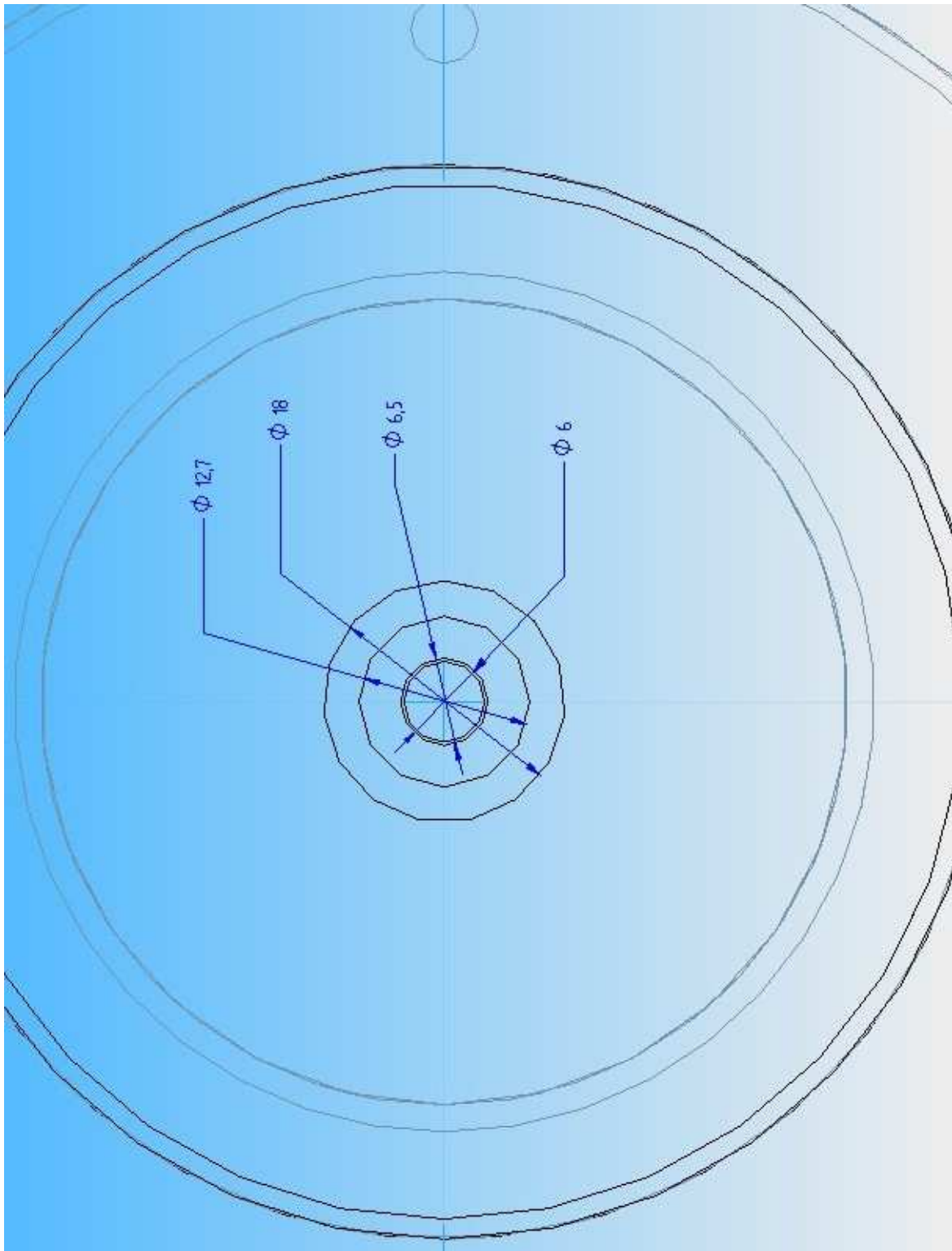
**Figura 14: Cámara de medida**



**Figura 15: Vista en alzado de la cámara de medida**



**Figura 16: Vista en planta de la cámara de medida**



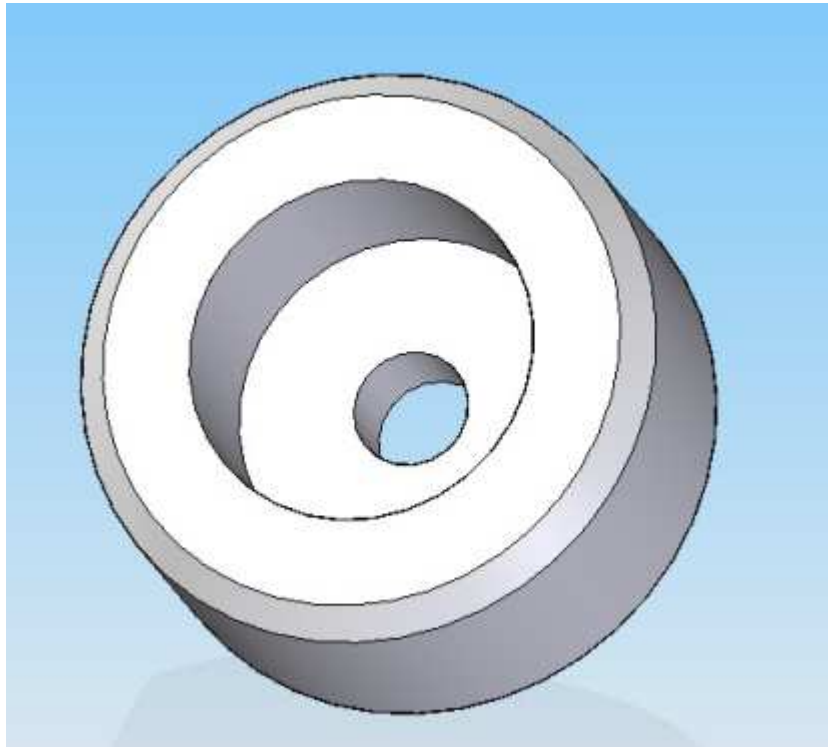
**Figura 17: Detalle de la vista en planta de la cámara de medida**



### **3.1.3.3 Tapa de membrana**

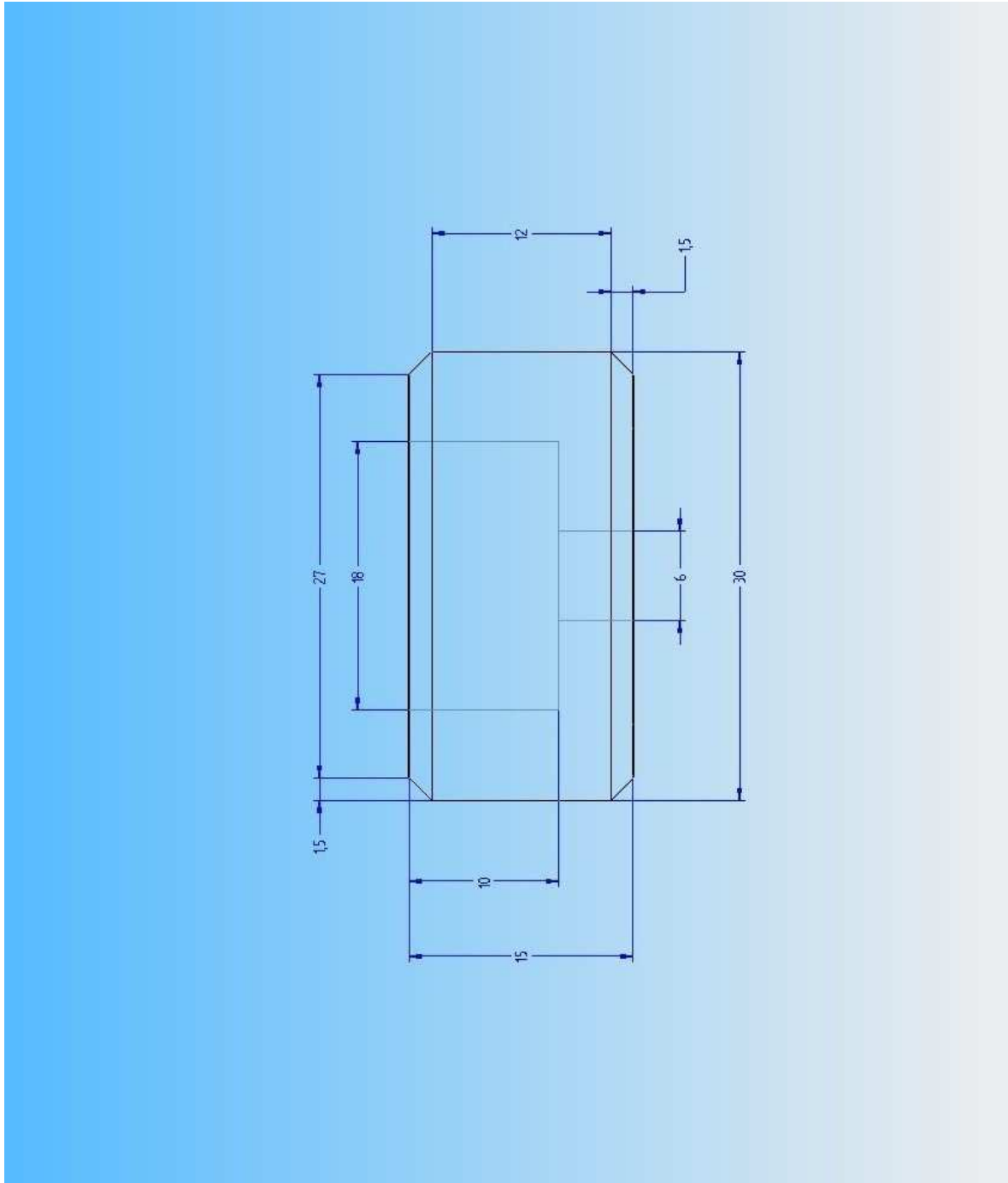
Es la pieza que va roscada sobre la membrana con el objetivo de ejercer presión sobre ella y así asegurar la estanqueidad (ver Figura 18).

La rosca interna utilizada (no mostrada en la figura debido a limitaciones en el programa utilizado) en esta pieza es, al igual que la cámara de medida, de métrica M18 (ver Figura 18 y Figura 19).

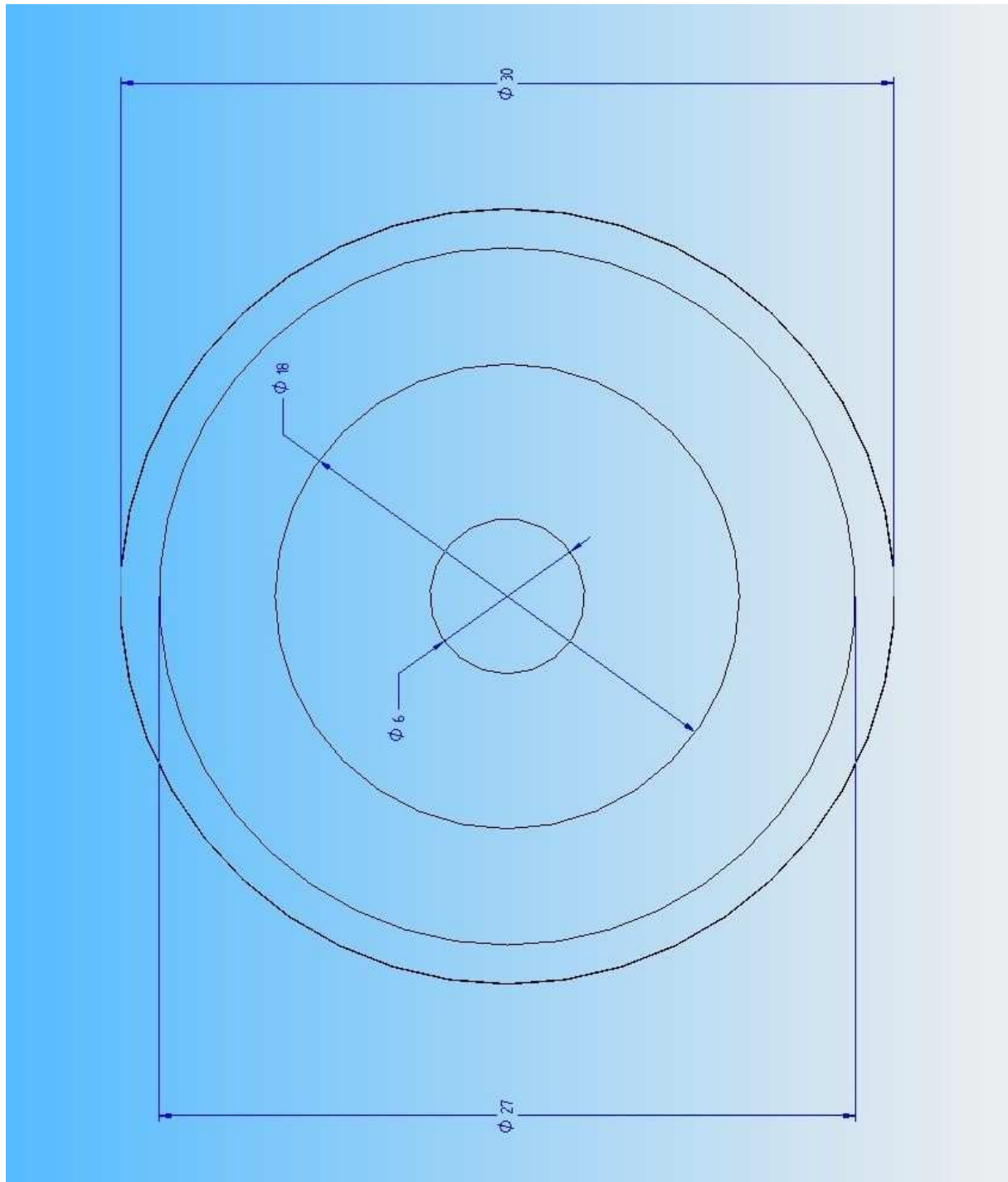


**Figura 18: Tapa de membrana**





**Figura 19: Vista en alzado de la tapa de membrana**



**Figura 20: Vista en planta de la tapa de membrana**

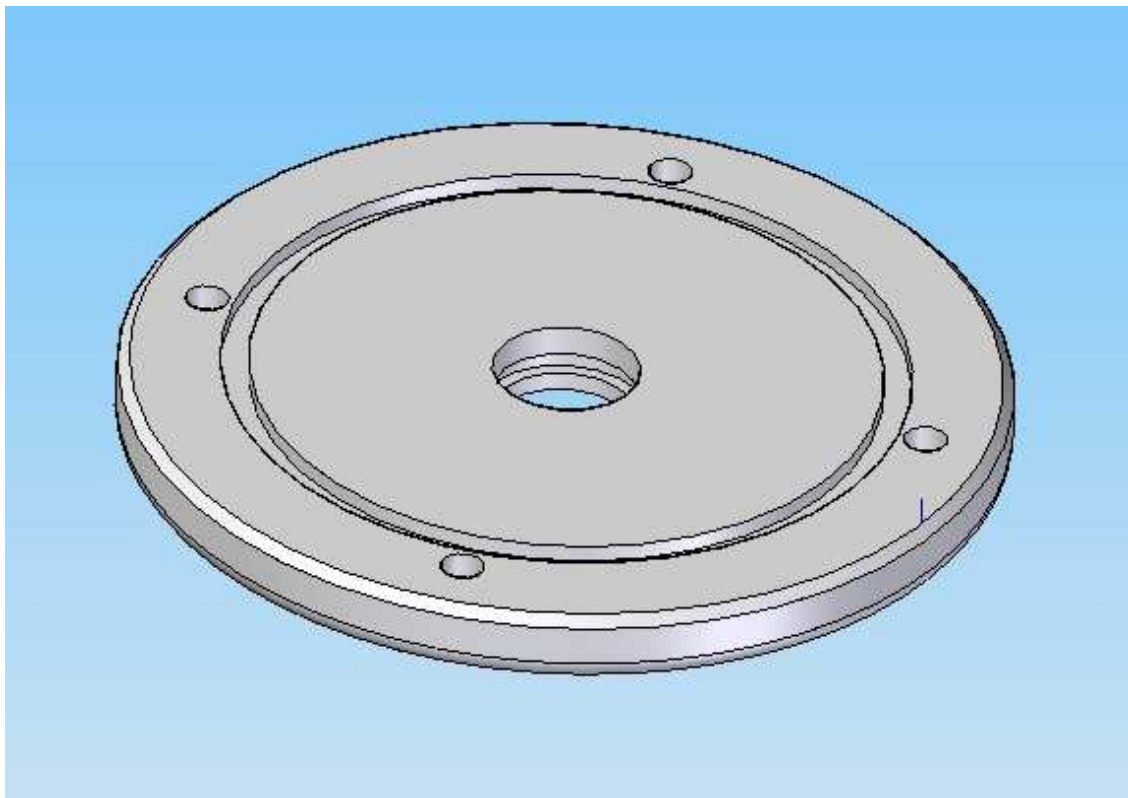
#### **3.1.3.4 Tapa de la cámara de medida**

Esta pieza se utiliza para cerrar la pieza de la cámara de medida, a través de ella pasa la sonda del fluorímetro (ver Figura 21).

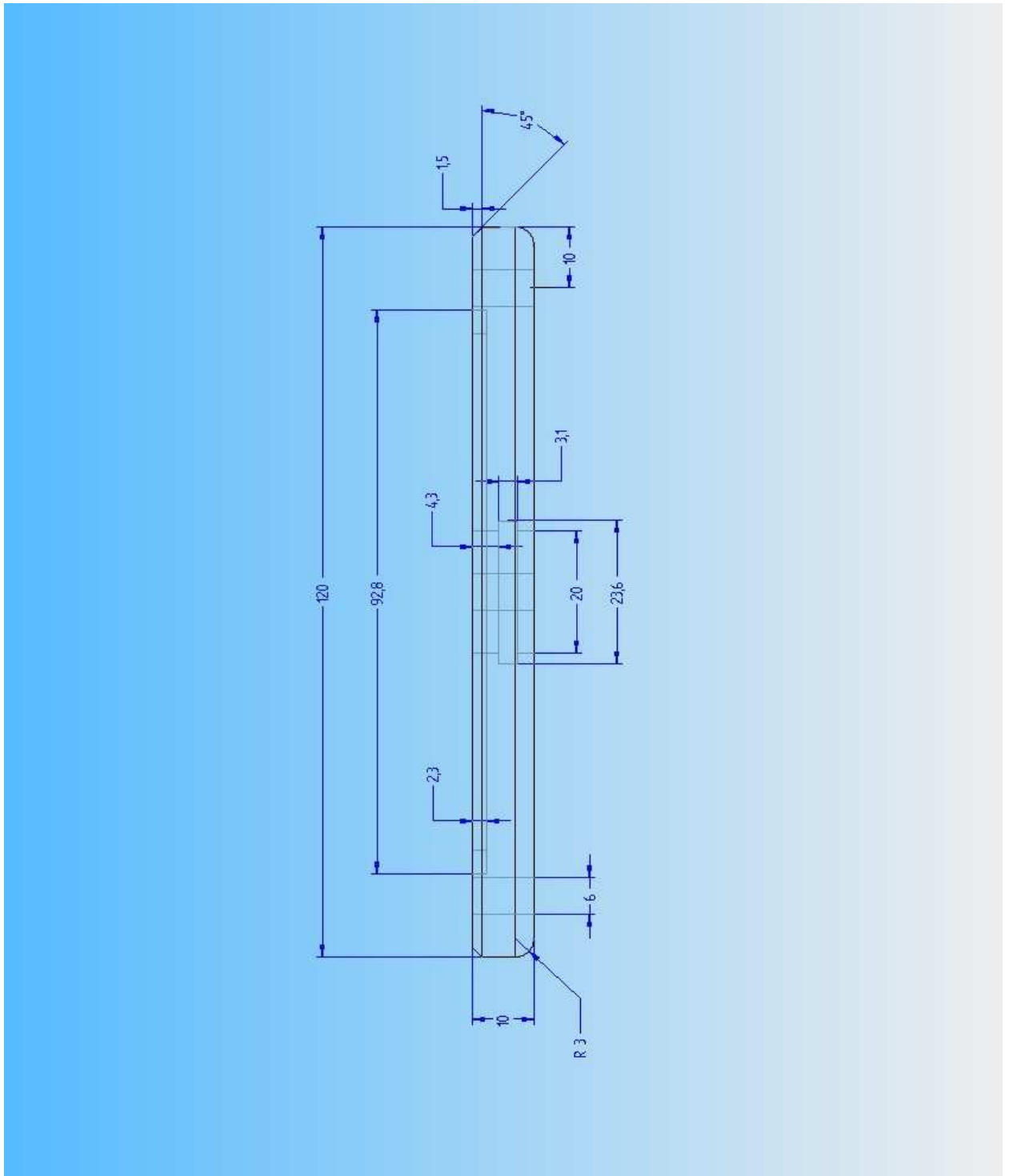
Tiene dos juntas tóricas, la mayor de ellas se utiliza para hacer estanque la unión de esta pieza con la cámara de medida. La menor es una tórica interna utilizada para sellar el orificio de entrada de la sonda en la cámara.

Para el cálculo de la mayor de las tóricas se tiene en cuenta que ésta ha de tener un diámetro superior a 80 mm, que es el diámetro interno de la cámara de medida, e inferior a 100 mm, que es el diámetro en el que se alojan los tornillos. Existen tres juntas que cumplen dichas especificaciones, finalmente se escoge la de 85 mm por ser esta la más alejada de los tornillos.

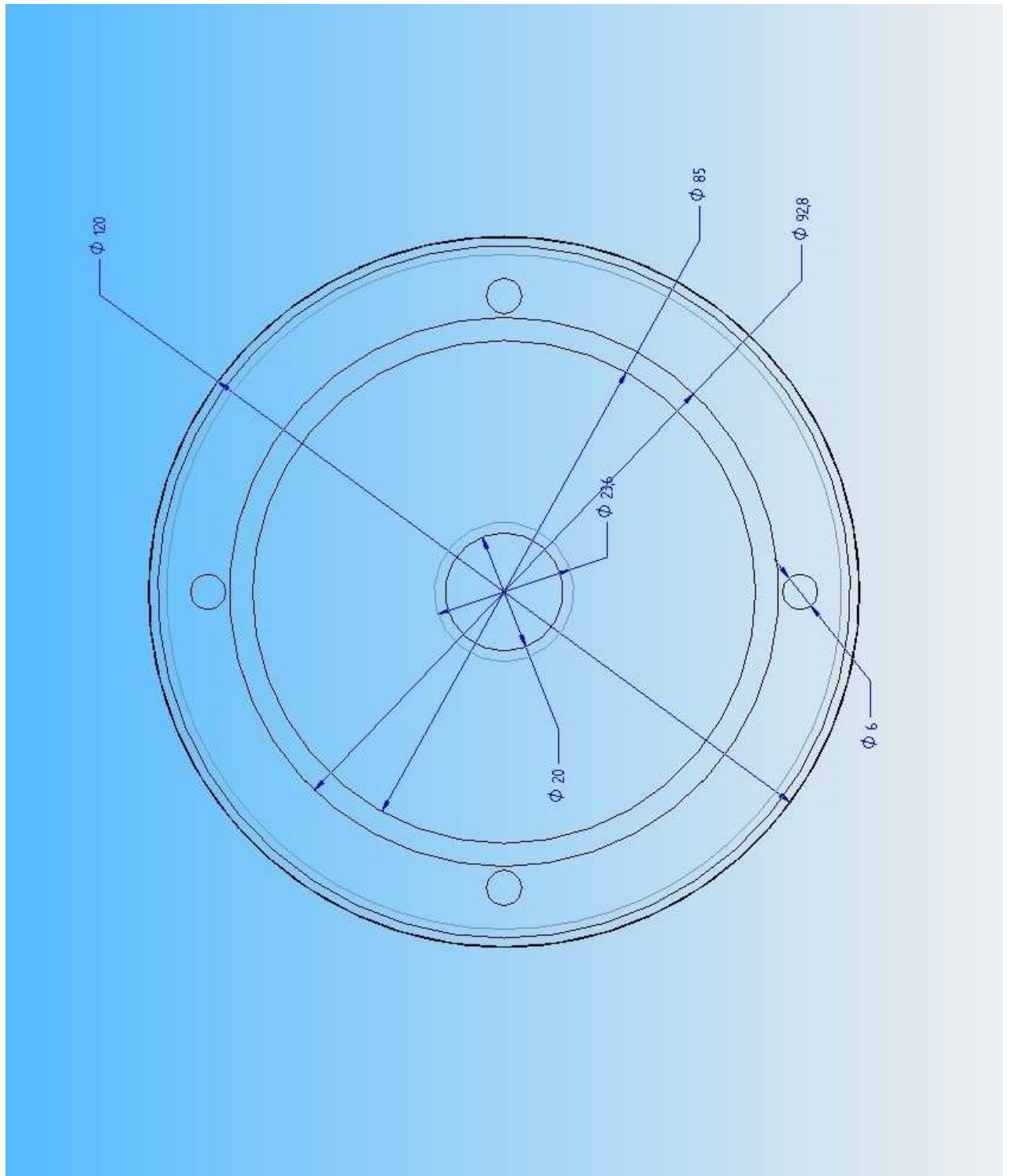
El cálculo de la tórica de tamaño inferior se realiza de un método distinto al realizado hasta ahora, ya que esta no se va a alojar en una cavidad superficial sino en una interna. En esta ocasión hay que fijarse en el diámetro d11 (ver Tabla 1) y ver cual se aproxima más al diámetro de la sonda del fluorímetro (20 mm). Existe una junta de 20 mm así que se escoge ésta, indicando al taller que nos dé una décima más de holgura para que pueda entrar la sonda, y se diseña la cavidad correspondiente, resultando la anchura 3,1 mm y la profundidad 1,8 mm por radio (ver Figura 22 y Figura 23).



**Figura 21: Tapa de la cámara de medida**



**Figura 22: Vista en alzado de la tapa de la cámara de medida**

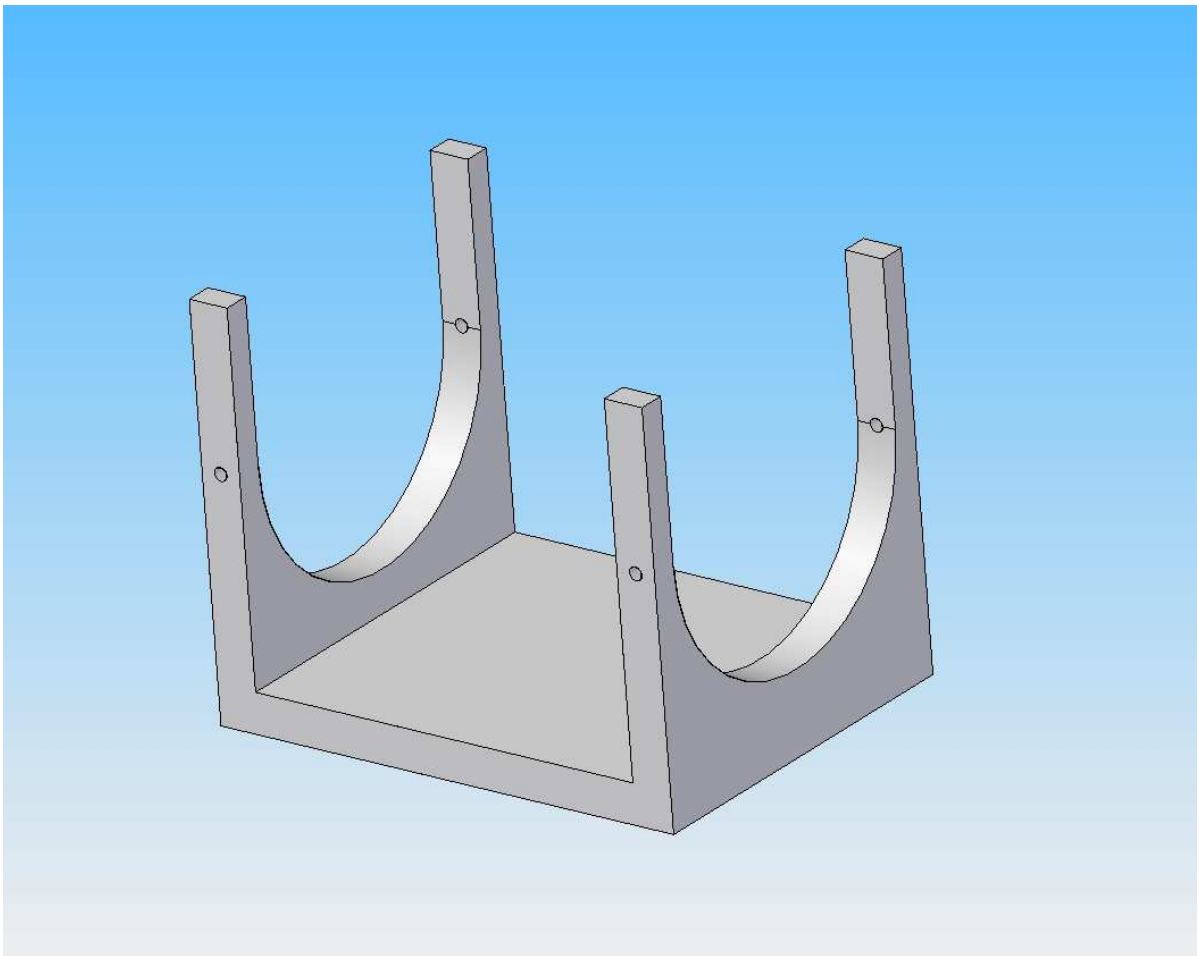


**Figura 23: Vista en planta de la tapa de la cámara de medida**

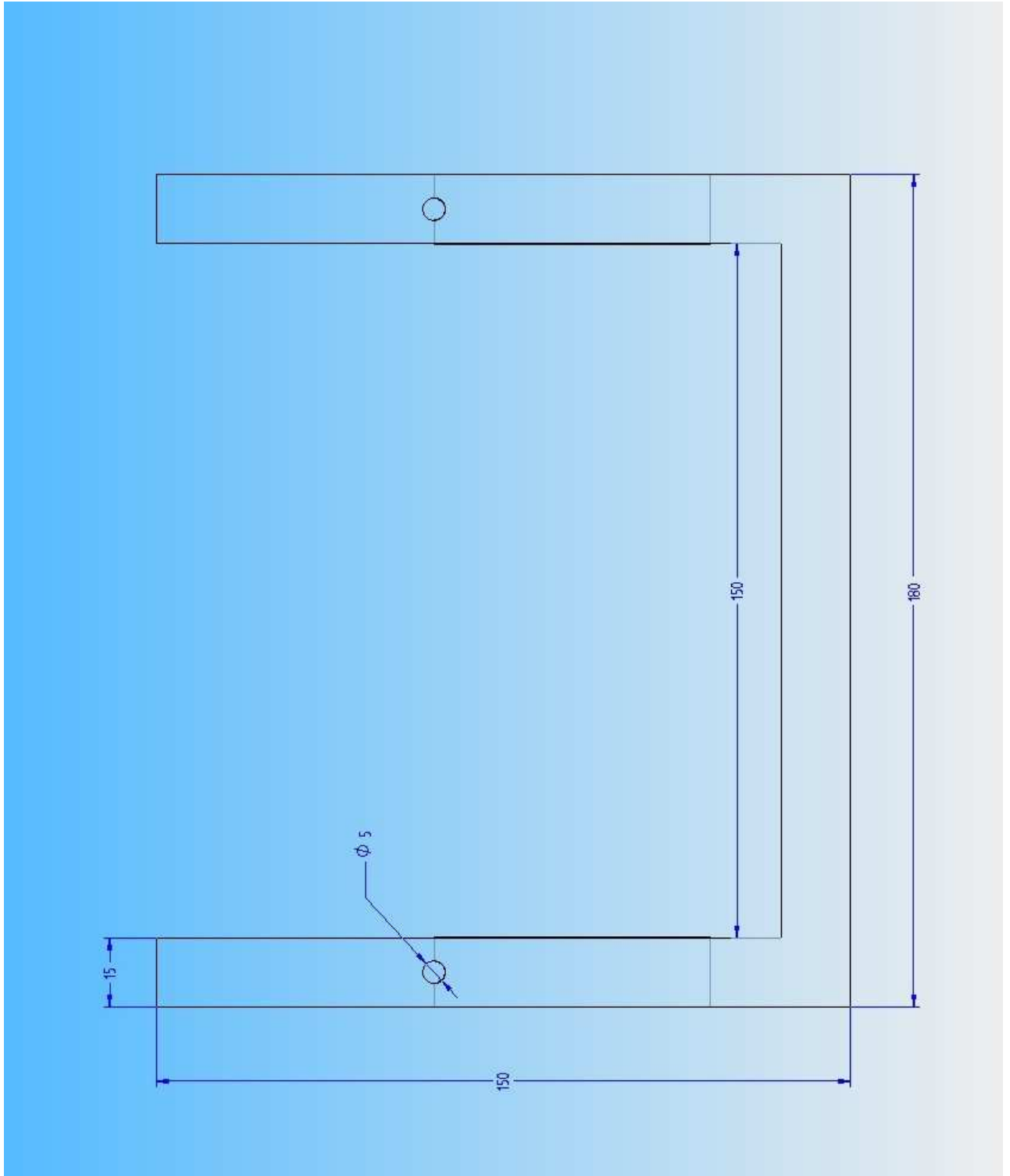
### **3.1.3.5 Soporte**

El objetivo de esta pieza es sostener el conjunto de piezas anteriores cuando éstas se encuentren montadas (ver Figura 24).

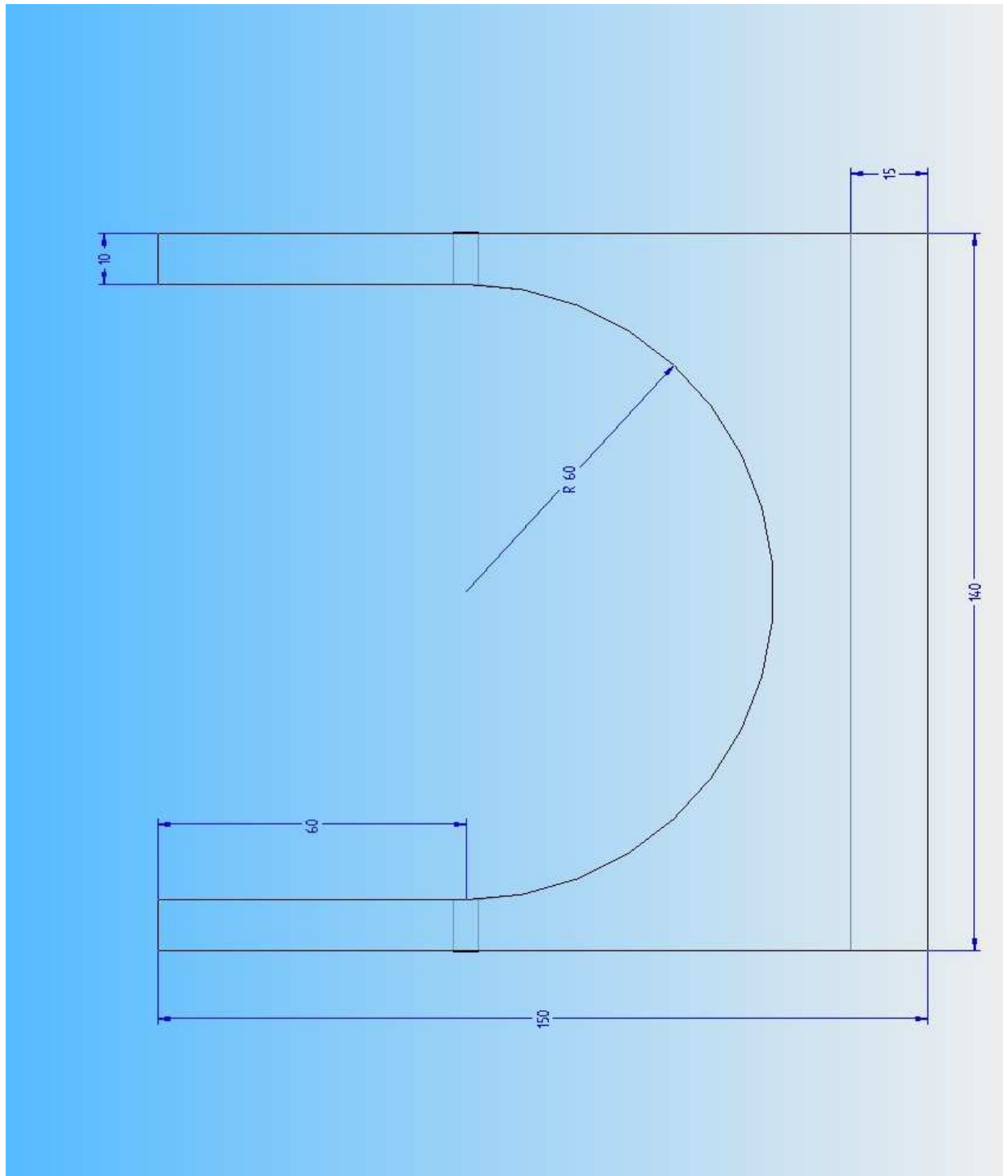
Los dos apoyos del soporte deben tener un radio algo superior al exterior de la pieza proporcionando al radio diseñado algo de holgura, ya que, si el radio fuese exactamente igual, las piezas no encajarían. Estos, además, deben estar situados teniendo en cuenta la longitud de la pieza, de tal forma que la pieza se pueda apoyar en los soportes y que estos se encuentren en los extremos de la misma (ver Figura 25, Figura 26 y Figura 27).



**Figura 24: Soporte**

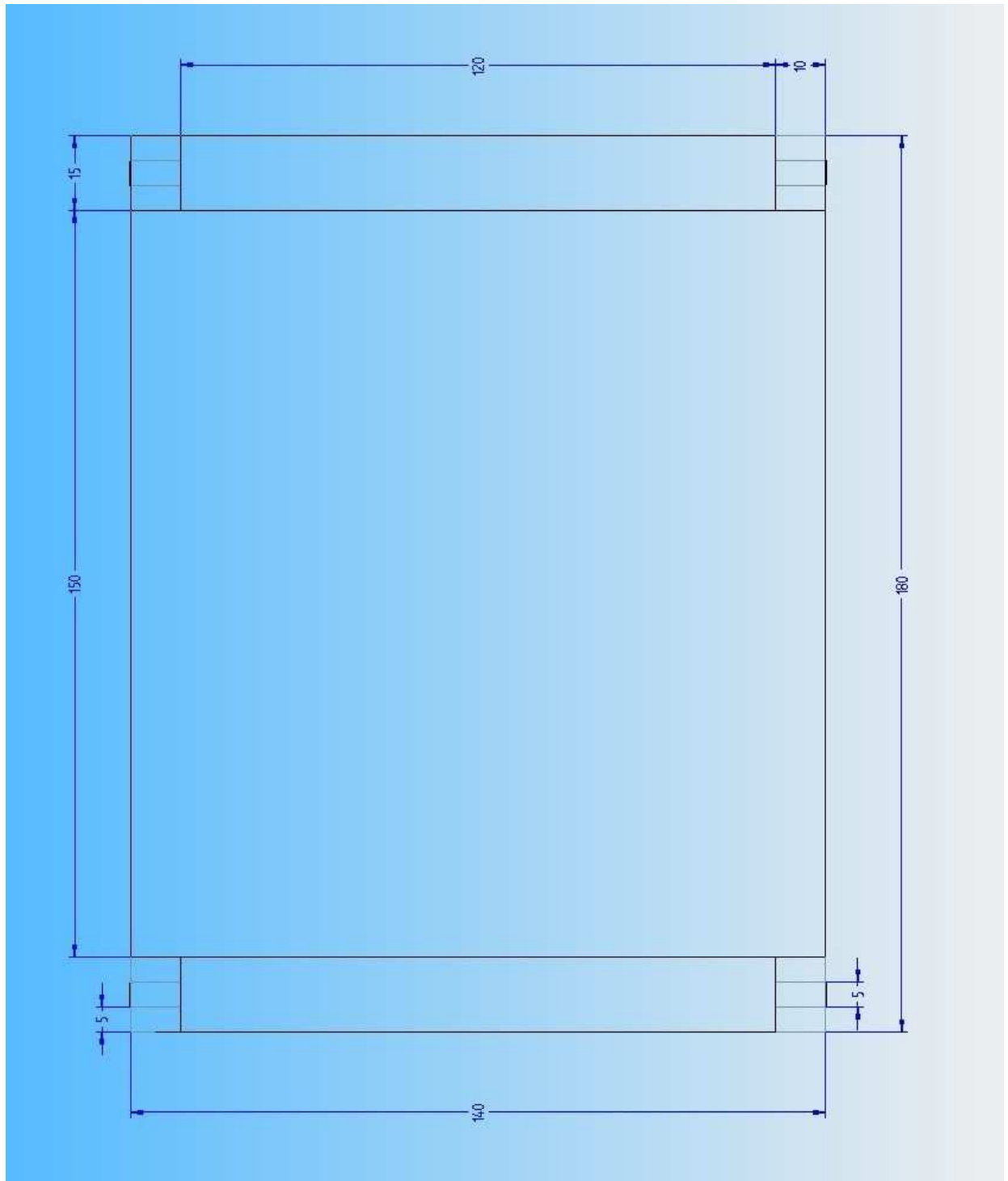


**Figura 25: Vista en alzado del soporte**



**Figura 26: Vista en perfil del soporte**





**Figura 27: Vista en planta del soporte**

## **3.2 PREPARACIÓN DEL SISTEMA DE MEDIDA**

El filme con la sonda fluorescente va a estar en íntimo contacto con el extremo de la guía de luz, para poder recoger la mayor intensidad de fluorescencia posible. En algunos casos, recogidos en la bibliografía [Uğur,2009], la sonda fluorescente se deposita sobre la membrana a estudiar. En este trabajo se ha optado por diseñar un sistema de medida universal, es decir útil para cualquier sistema. El dispositivo de medida consiste en preparar un filme con la sonda insertada o disuelta, y depositarlo sobre la superficie de la guía de luz.

A continuación se detallan los procedimientos seguidos para el desarrollo del filme.

Como cromóforo se utiliza pireno por los siguientes motivos:

1. Es termoestable, es decir, no se degrada a temperaturas inferiores a 300°C.
2. Es muy sensible a la concentración de O<sub>2</sub> por lo que pequeñas variaciones de la concentración de oxígeno deberían proporcionar importantes variaciones en la intensidad de fluorescencia.
3. Tiene un rendimiento cuántico suficiente (0,65) y el tiempo de vida de su fluorescencia es elevado (410 ns).
4. El coste del pireno es relativamente bajo en comparación con otros cromóforos.

El filme a preparar debe cumplir las siguientes especificaciones:

1. El proceso de fabricación debe ser sencillo.
2. Debe ser permeable al oxígeno.
3. Buscaremos un material que ya tengamos en el laboratorio o de bajo coste, transparente y de fácil dopaje.

### **3.2.1 Preparación del filme**

Se han preparado tres tipos de filme: dos de plástico y uno de un organosilano sobre un cubre de vidrio. Los materiales polimérico seleccionados fueron polimetacrilato de metilo, PMMA, por su fácil procesado, y polietileno de baja densidad, LDPE, por su alta permeabilidad al oxígeno. A continuación se explica el procedimiento de preparación del filme e inserción de la sonda para cada uno de los tres tipos.

### **3.2.1.1 Filme de PMMA**

En primer lugar se opta por utilizar el PMMA (ver Figura 28) puesto que es transparente, fácil de procesar, no requiere una temperatura elevada, se dispone de suficiente en el laboratorio y la sonda se introduce en la misma etapa en la que se conforma el film, algo que facilita la labor de obtención del filme.



**Figura 28: PMMA original**

El método consiste en disolver el PMMA en acetona o en tetrahidrofurano (THF), ya que es soluble en ambos, para posteriormente añadir pireno (Py) en la disolución, retirar el disolvente por evaporación y conformar el material.

A continuación se describe el método a seguir para incorporar el Py al PMMA.

Se prepara una disolución 15% en volumen de PMMA en THF, disolvente que solubiliza completamente el PMMA.

Para hallar el volumen de THF se pesan 20 g del mismo y, conocida su densidad, calculamos el volumen.

$$d = \frac{m}{V}$$

$$V = \frac{m}{d} = \frac{20 \cdot 10^{-3}}{0,913} = 21,9 \text{ ml}$$

Tras conocer el volumen de THF se añade la cantidad correspondiente de PMMA.

$$m = 21,9 \cdot 0,15 = 3,285 \text{ g}$$

Una vez calculada la cantidad de THF y PMMA se coloca la disolución en un agitador para acelerar el proceso hasta disolución completa. Posteriormente se añade pireno a la disolución y se deja en agitación mecánica hasta asegurarse que se ha disuelto completamente.

Los cálculos realizados para lograr una concentración de  $10^{-4}$  M fueron los siguientes:

$$c = \frac{n}{V} \qquad 10^{-4} \text{ M} = \frac{\frac{m}{M_{Py}}}{V}$$

Conocido el volumen de THF (21,9 ml) y la masa molecular del pireno (300,76 u) se calcula la masa de pireno a añadir.

$$m = 10^{-4} \cdot 300,76 \cdot 21,9^{-3} = 0,66 \text{ mg}$$

La disolución de PMMA y pireno en THF se precipita sobre metanol y comienza a aparecer un sólido blanco (el PMMA), se asume que las moléculas de pireno de la disolución quedan atrapadas en las cadenas de PMMA durante el proceso de precipitado.



**Figura 29: PMMA-Py tras el secado a vacío**

Por último se separa el precipitado de la disolución por filtración para secarlo posteriormente en el horno y finalizar con un secado a vacío durante 1 hora a 100°C, se detiene el proceso de secado cuando la cantidad de masa se estabilice (ver Figura 29).

La siguiente etapa consiste en procesar el PMMA y conformarlo de manera adecuada para colocarlo sobre la guía de fibras.

La forma más sencilla consiste en preparar un filme de geometría circular ajustable al extremo de la guía de luz, para ello se utiliza una prensa de platos calientes.

Como molde se usan tres arandelas metálicas de 0,5, 1 y 2 mm de espesor respectivamente.

La temperatura de transición vítrea del PMMA es de 110°C a presión atmosférica, por lo que tendremos que elevar la temperatura aproximadamente 60°C por encima de este punto. Para ello se sitúa la arandela metálica de 1 mm de espesor, con PMMA-Py en su interior, sobre los platos de la prensa y se calienta hasta 170°C. Una vez alcanzada la temperatura se eleva la presión hasta 100 bares manteniéndola durante 10 min. Tiempo tras el cual se desconectan los platos y se deja enfriar hasta 100°C.

Una vez enfriados se retira la presión y se observa la pieza obtenida. Las características dimensionales de la misma corresponden exactamente con las buscadas, sin embargo la pieza debía ser completamente transparente y, por el contrario, pueden observarse diferentes imperfecciones en la misma tales como grietas y burbujas.

Esto puede deberse a dos motivos principalmente:

1. Trazas de disolvente en la muestra.

Antes del procesado se coloca el PMMA-Py a vacío para eliminar las trazas de disolvente.

2. Gases retenidos en la muestra durante el prensado

Es posible que, durante el prensado, quede aire retenido en la muestra. Para evitar esto conviene no elevar la presión bruscamente sino realizar continuas subidas y bajadas de presión para poder así liberar dichos gases.

Se vuelve a realizar de nuevo el proceso con las nuevas mejoras introducidas al mismo. Finalmente el filme obtenido es transparente incoloro, lo que demuestra que no sufrió degradación durante el proceso.

Tras obtener el primer filme de 1 mm de grosor (ver Figura 30) se procede a fabricar los otros dos filmes necesarios de diferente espesor, de 0,5 mm y el de 2 mm.



Realizar la pieza de 0,5 mm de espesor tampoco supuso ningún problema, sin embargo al fabricar la pieza de 2 mm se observa cómo los defectos vuelven a aparecer en la pieza. Para intentar evitarlos se mantiene el material más tiempo en la cámara de vacío, se eleva la presión muy lentamente en la prensa, se mantiene la presión durante más tiempo y se espera a que la temperatura haya disminuido hasta los 60° antes de retirar la presión.



**Figura 30: Filme de 1mm de grosor de PMMA-Py**

El número de defectos disminuye pero no desaparece, lo que indica que con este método no es posible realizar una pieza de este grosor.

#### **3.2.1.2 Vidrio silanizado**

El método consiste en preparar una disolución de pireno con aminopropildimetilsilano, APMS y después sumergir vidrios de diferentes espesores en ella (ver Figura 31).

El vidrio es más permeable al paso del oxígeno que el PMMA y existen vidrios comerciales de diferentes espesores. Con esto aseguraríamos la permeabilidad del filme

En primer lugar se prepara una disolución de pireno con APMS. Posteriormente se sumerge el vidrio en dicha disolución y se espera aproximadamente una hora a que el silano se haya fijado en el vidrio creando una película de pireno.

Finalmente se retira el vidrio de la disolución y se conforma este mediante cortes para obtener una forma circular.

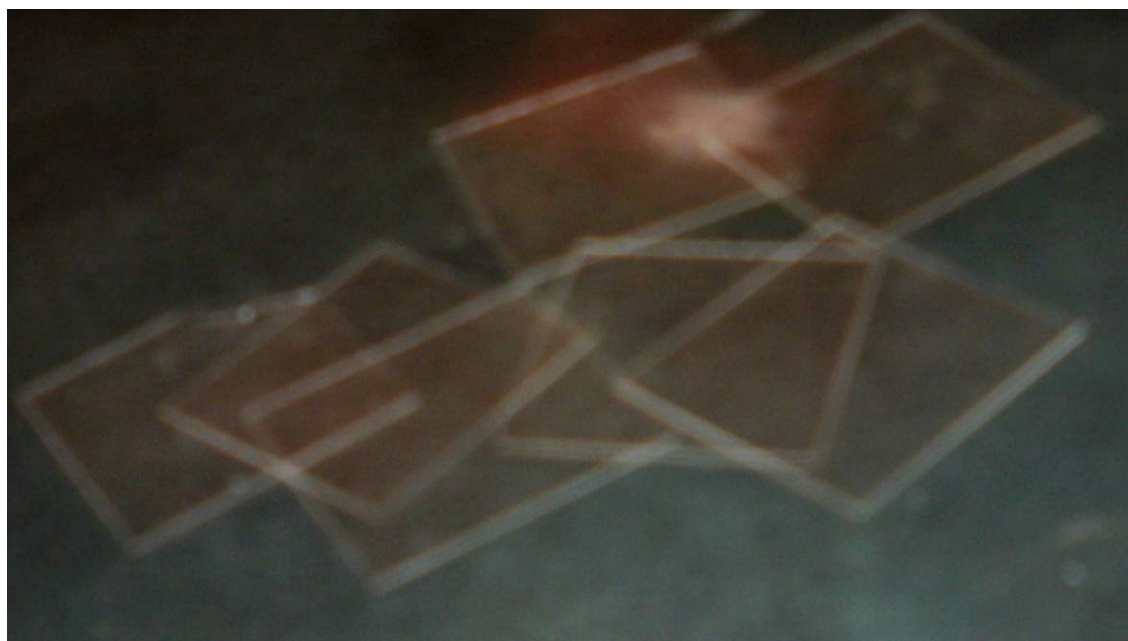


Figura 31: Vidrio

Tabla 3: Permeabilidad a los gases en diferentes materiales

Film	Transmisión de vapor de agua (g/m <sup>2</sup> ·24 h) 38°C/90% HR	Permeabilidad a los gases (cm <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> ·24h·atm) Films 25 micras a 25°C			Resistencia a grasas y aceites
		Oxígeno	Nitrógeno	Dióxido de carbono	
Poliéster orientado	25-30	50-130	15-18	180-390	E
Poliéster orientado recubierto de PVdC	1-2	9-15	-	20-30	E
Nylon-6	84-3100	40	14	150-190	E
Nylon-6,6	45-90	78	6	140	E
Nylon-11	5-13	500	52	2000	E
Poliuretano (Poliéster)	400-600	800-1500	600-1200	7000-25000	E
Poliestireno orientado	100-125	5000	800	18000	B
APET: Poliéster amorfo	40-50	110-130	-	-	E
CPET: Poliéster cristalino	Las permeabilidades cambian en función del nivel de cristalización. Por cada 1% de variación en la cristalización hay un 1% de mejora en la intensidad de transmisión				
EVCH	16-18	3-5	-	-	-
PVC rígido	30-40	150-350	60-150	450-1000	E
PVC plastificado	15-40	500-30000	300-10000	1500-4600	B
Copolímero PVdC-PVC, (Saran)	1,5-5,0	8-25	2-2,6	50-150	E
Poliacrilonitrilo	78	12	3	17	B
Poliétileno (LDPE)	18	7800	2800	42000	P
Poliétileno (HDPE)	7-10	2600	650	7600	B-E
Polipropileno fundido	10-12	3700	680	10000	B
Polipropileno, orientado	6-7	2000	400	8000	B-E
Polipropileno, orientado recubierto con PVdC	4-5	10-20	8-13	35-50	E
Polibutileno	8-10	5000	-	-	E
Ionómeros	25-35	6000	-	6000	E
Etileno-Acetato de Vinilo	40-60	12500	4900	50000	P

### **3.2.1.3 Polietileno de baja densidad (LDPE)**

Observando la siguiente tabla de permeabilidad de los gases (ver Tabla 3) se puede comprobar cómo el Polietileno de baja densidad (LDPE) tiene una alta permeabilidad al paso del oxígeno (el segundo más elevado de la tabla), esto, unido a su fácil obtención, bajo coste y facilidad de conformado y adhesión del cromóforo hacen que se utilice este polímero como tercera y última opción.



**Figura 32: LDPE original**

#### **3.2.1.3.1 Polietileno de baja densidad procesado (LDPE)**

Se podría pensar en utilizar cualquier LDPE, sin embargo se ha de estar seguro de que este no lleva ningún tipo de aditivo que pudiera modificar los resultados, así que se decide utilizar LDPE comercial (ver Figura 32) y conformarlo.

El principal problema de dicha solución radica en los pequeños espesores de filmes que se necesitan (tres espesores entre 10 y 30  $\mu\text{m}$ ) y en la dificultad para conformar los mismos.

Se decide utilizar la prensa de platos calientes una vez más, pero en lugar de utilizar arandelas de metal (no sería posible debido a los reducidos espesores) se utilizará una pieza como la siguiente (ver Figura 33).

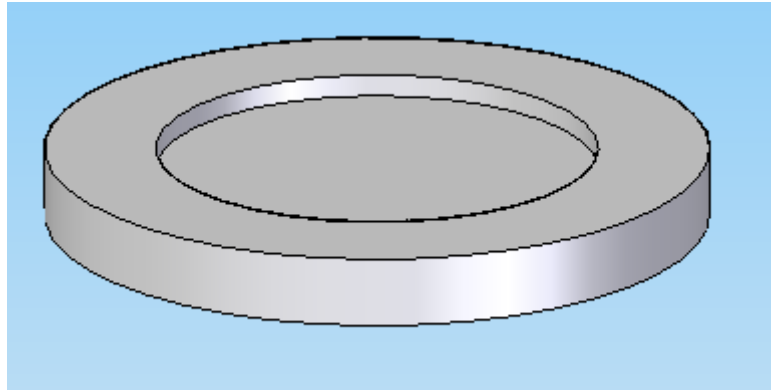
A esta pieza cilíndrica se le realiza una hendidura de 20  $\mu\text{m}$  de espesor.



Se sitúa el LDPE de forma esférica sobre la hendidura de la pieza y se ejerce presión sobre este.

De esta forma se debería obtener una fina capa de LDPE de 20  $\mu\text{m}$  que posteriormente se cortará para así obtener filmes con forma circular.

De ser este el proceso escogido finalmente habrá de repetirse con otras dos piezas de hendiduras de 10 y 30  $\mu\text{m}$  respectivamente.



**Figura 33: Pieza para conformar LDPE**

Sin embargo al realizar el proceso se pudo observar como el filme resultante estaba adherido a la pieza y resultaba prácticamente imposible conseguir que se desprendiera de la misma sin que se rompiera.

Esto unido a que sería necesaria la fabricación de dos piezas más y que la hendidura en la pieza no era tal sino que era tan sólo un rebaje debido al radio de curvatura de la muela durante la fabricación y, por tanto, no se podía asegurar el espesor de los filmes hacen que se descarte esta posibilidad y se intente esta vez con filmes de LDPE comercial.

#### 3.2.1.3.2 Polietileno de baja densidad comercial (LDPE)

En el catálogo de Goodfellow se encuentran los siguientes filmes comerciales de LDPE (ver Tabla 4).

Se buscan tres membranas de diferente espesor. Los principales factores a tener en cuenta a la hora de la elección de la misma son los siguientes:

1. Que no tenga aditivos que puedan modificar el valor de intensidad de fluorescencia.
2. Una respuesta rápida por lo que se valorarán especialmente los espesores menores en el film.

3. Se intentará que el coste sea el menor posible.

**Tabla 4: Tabla del catálogo comercial de Goodfellow**

<b>ET311115 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.015mm</b>
<b>ET311126 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.025mm</b> , Coil width : <b>600mm</b>
<b>ET311130 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.03mm</b>
<b>ET311150 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.05mm</b>
<b>ET311151 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.05mm</b> , Condition : <b>Additive free polymer</b>
<b>ET311201 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.1mm</b> , Condition : <b>Additive free polymer</b>
<b>ET311250 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.125mm</b>
<b>ET311251 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.15mm</b> , Condition : <b>Additive free polymer</b>
<b>ET311301 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.18mm</b> , Condition : <b>Additive free polymer</b>
<b>ET311300 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.2mm</b>
<b>ET311351 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.23mm</b> , Condition : <b>Additive free polymer</b>
<b>ET311350 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.25mm</b>
<b>ET311452 Polyethylene - Low Density Film</b> Thickness : <b>0.5mm</b> , Colour : <b>Colourless</b>

En un principio se puede pensar en elegir los filmes de 0,015; 0,025 y 0,05 mm. Sin embargo el LDPE de 0,025 mm se suministra en rollos y no en láminas lo cual dificultaría la fabricación de los filmes, además de subir el coste, en caso de su elección. Por esto se decide cambiar el espesor por el de 0,03mm.

Como se puede observar sólo los LDPE de 0,05mm y 0,1 mm son libres de aditivos, es por estos que se preguntó al fabricante los aditivos que pudieran tener el resto de polietilenos. Finalmente el fabricante comunica que no nos puede facilitar dicha información.

Ante la posibilidad de que alguno de ellos puede interferir en los datos de fluorescencia se decide escoger sólo dos espesores de 0,05 y 0,1 mm respectivamente.

Una vez elegidos los espesores se pasa a la preparación del filme. Para ello se preparan dos disoluciones de THF y pireno, de  $9 \cdot 10^{-4}$  y  $3,5 \cdot 10^{-3}$  respectivamente, se preparan dos para utilizar aquella que proporcione mayores valores de fluorescencia. Se recortan dos pequeños cuadrados de un centímetro de lado del LDPE de 0,1 mm de espesor y se sumergen en cada una de las disoluciones hasta que el pireno haya difundido dentro del filme.

Posteriormente se extrae el disolvente mediante vacío introduciéndolo en una cámara de vacío hasta que, tras comprobarlo en una báscula, no exista cambio de masa en el filme.

Finalmente se realiza el mismo procedimiento con el espesor de 0,5 mm y se obtienen así los dos filmes.

### **3.2.2 Evaluación de los filmes mediante la emisión de fluorescencia**

A continuación se realizarán los ensayos de fluorescencia para cada uno de los métodos para, posteriormente, elegir aquel que mejor cumpla las características buscadas.

Los datos obtenidos han sido tratados con el programa Microcal Origin 6.0.

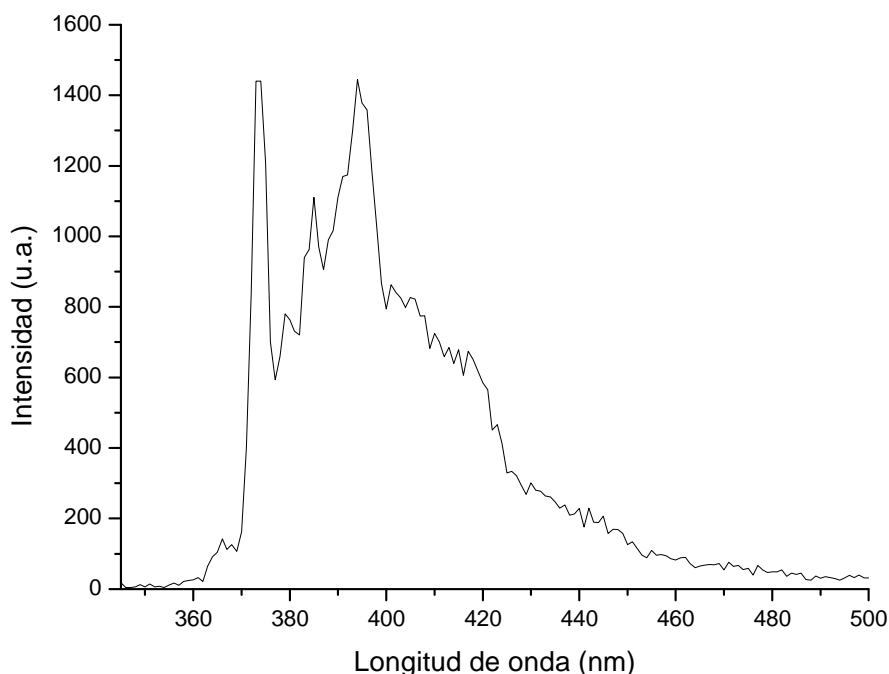
#### **3.2.2.1 PMMA-Py**

Tras obtener la pieza se introduce ésta en el fluorímetro para ver si los resultados son los esperados o si, por el contrario, no hay suficiente cantidad de pireno como para mediar la fluorescencia.

Se puede observar como la intensidad de fluorescencia es suficiente como para realizar mediciones de la misma (ver Figura 34).

Sin embargo se observa un máximo a una longitud de onda aproximada de 375nm, este es debido a la polaridad de la muestra, es decir, es posible que aún existieran trazas de disolvente en la muestra o bien la matriz del PMMA es demasiado polar.

En principio no se descarta este método por dicho máximo ya que se puede corregir mediante la eliminación de los restos de disolvente que puedan existir en la muestra.



**Figura 34: Espectro de fluorescencia del PMMA-Py**

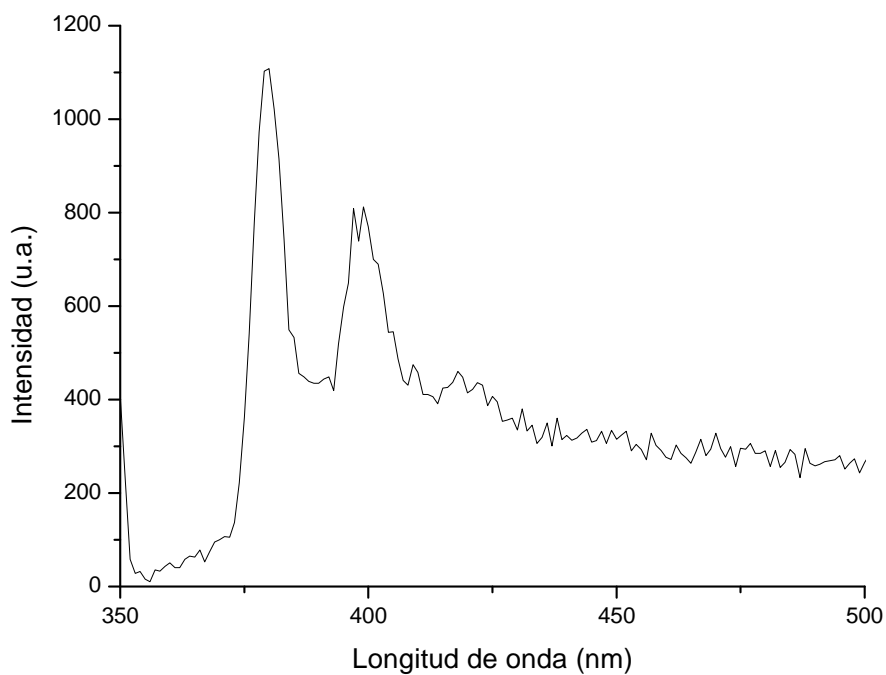
#### **3.2.2.2 Vidrio silanizado-Py**

Tras finalizar el proceso de obtención del vidrio silanizado procedemos a medir la fluorescencia del mismo.

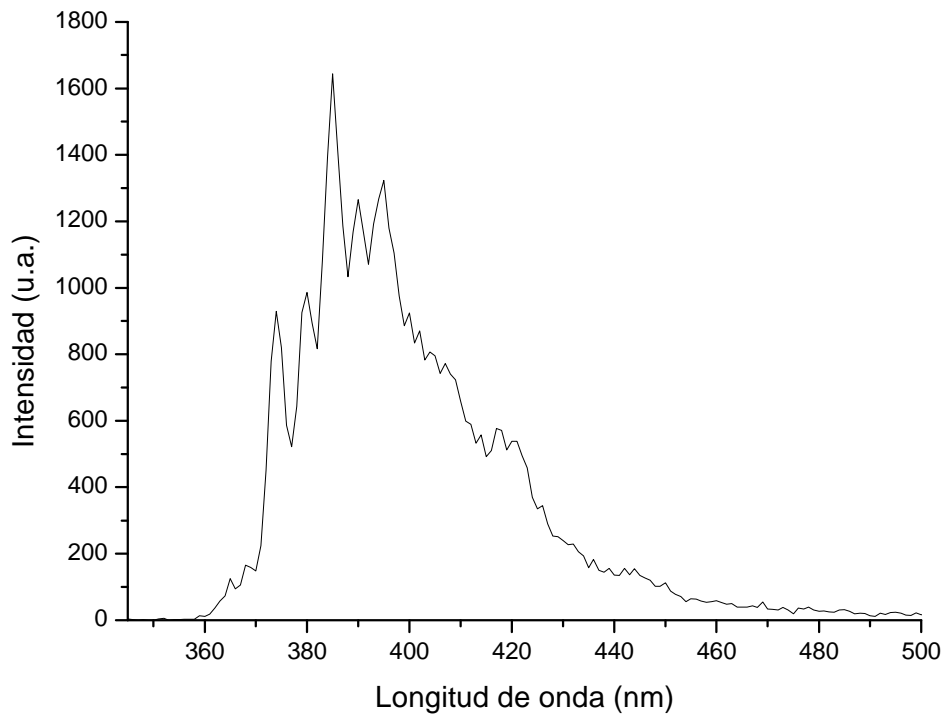
Se puede ver como los valores de intensidad de fluorescencia son demasiado bajos (ver Figura 35) y no son suficientes como para medirse en el fluorímetro, además el espectro mostrado por el fluorímetro no se corresponde con el correspondiente al pireno.

Para intentar subsanar dicho problema se vuelve a realizar el proceso pero, en este caso, sin lavar previamente los cristales con ningún tipo de disolvente para evitar así retirar la película de silano. A continuación se procede a introducirlos en la estufa a 110°C para intentar fijar la mayor parte posible de silano.

Tras este paso se mide la fluorescencia del vidrio. Sin embargo los resultados de fluorescencia vuelven a ser insatisfactorios. Esto unido a que el silano no se distribuye uniformemente por el vidrio y que este, a su vez, es demasiado frágil y quiebra con facilidad, hace que desechemos este método.



**Figura 35: Espectro de fluorescencia del vidrio silanizado**



**Figura 36: Espectro fluorescencia del LDPE-Py**

### **3.2.2.3 LDPE-Py**

Una vez calculada la fluorescencia en ambos filmes se observa que la concentración más alta de pireno proporciona mayores valores de fluorescencia. Por lo que se descarta el filme de menor concentración de pireno y se continúa utilizando únicamente el de mayor concentración.

Se puede comprobar cómo los valores de fluorescencia son suficientes para poder utilizar este método para la preparación del filme (ver Figura 36).

### **3.2.3 Selección del filme**

Una vez descartado el método del vidrio silanizado se debe elegir el más adecuado a nuestras necesidades de entre las dos posibilidades restantes.

Ambos polímeros han demostrado tener valores de fluorescencia suficientes como para poder ser utilizados por lo que para la elección final nos basaremos en otro tipo de parámetros.

El PMMA no es un material demasiado permeable al oxígeno, por lo que, en estos grosores, puede crear problemas a la hora de medir la fluorescencia, ya que la medida de esta no sería inmediata puesto que el oxígeno tardaría demasiado en difundir hacia el interior del polímero y los datos obtenidos no se corresponderían con las condiciones de oxígeno de la cámara.

Además, cómo se puede comprobar en el apartado anterior, la primera banda de emisión es extremadamente alta, debido a la presencia de trazas de disolvente (THF), que se debería eliminar completamente para poder proseguir con las medidas.

Sin embargo el LDPE es un polímero con mayor permeabilidad al oxígeno por lo que los datos que se obtengan se corresponderán en mayor medida que los correspondientes al PMMA.

Por el contrario el LDPE es más costoso de conseguir, ya que hay que comprar todos los espesores que se necesiten mientras que con el PMMA basta con conseguir diferentes espesores de arandelas para poder fabricar todos los filmes necesarios de dicho espesor hasta un máximo comprendido entre 1 y 2 mm, a partir del cual se observan defectos internos en las piezas.

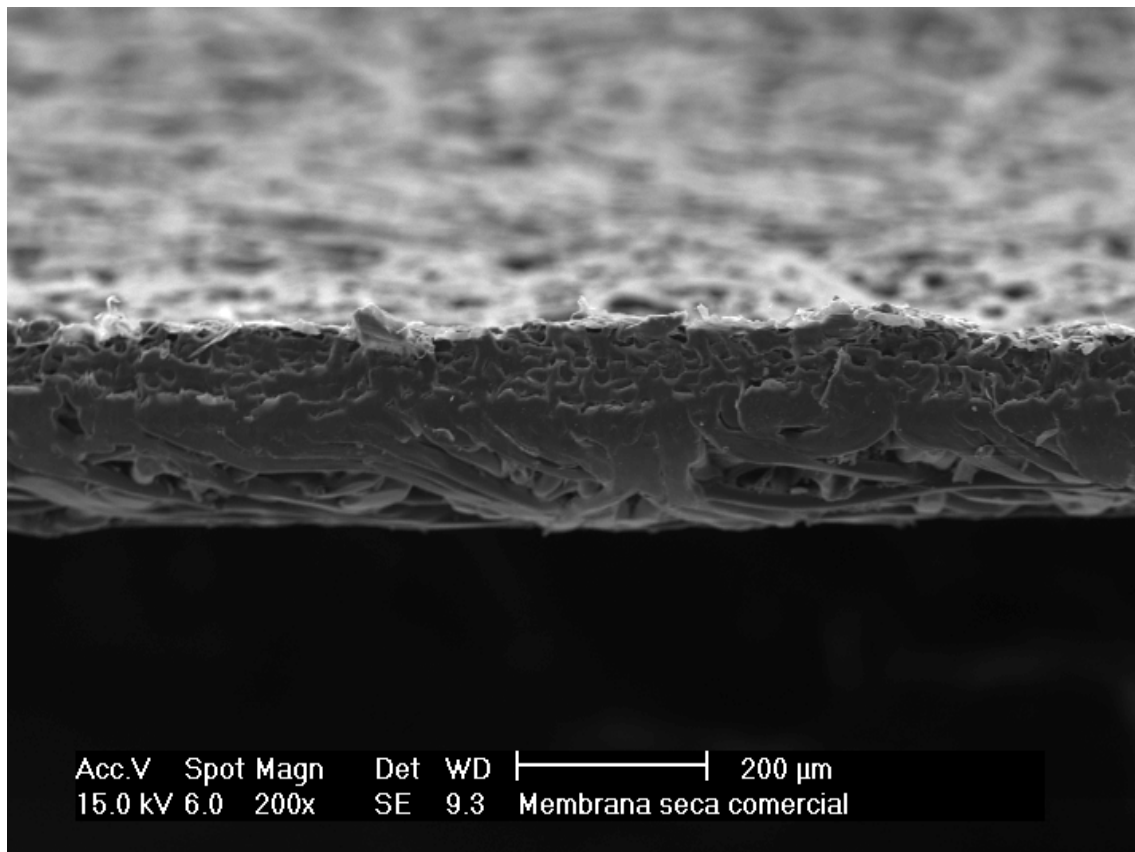
Finalmente se decide escoger el LDPE ya que, pese a ser más costoso evita el tener que comprar, buscar o fabricar diferentes arandelas, las cuales podrían disminuir su espesor debido a la prensa de platos calientes, evita el tener que eliminar el pico de polaridad en el PMMA y porque los valores de fluorescencia medidos serán más exactos.

### 3.3 MEMBRANA

Para la realización del proyecto se utilizaron membranas secas suministradas por la empresa Alfa Laval, concretamente el modelo GPRSS.

Estas membranas están indicadas para procesos de ultrafiltración y además son resistentes a altas temperaturas y a un amplio rango de pH. Estas membranas cumplen con la directiva de la Comisión de la Unión Europea 90/128 CEE, además de las normas de la FDA.

Como se puede observar en la Figura 37, obtenida mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), se trata de una membrana asimétrica con una capa selectiva microporosa (parte superior) y otra macroporosa (tipo “fingers”).



**Figura 37: Membrana utilizada**



## ***CAPÍTULO IV***

---

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



## **4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En este capítulo se analizarán los resultados experimentales de fluorescencia de los distintos espesores de membrana en las diferentes condiciones de gases dentro de la cámara.

En primer lugar es muy importante conocer si la sonda se degrada durante el tiempo de exposición a la luz o si es estable y puede ser utilizada en el tiempo que dura el experimento.

También es importante conocer la velocidad de respuesta del sensor. Esto es importante para membranas con un alto coeficiente de permeabilidad, ya que, si la respuesta del sensor es lenta, el valor indicado por el sensor no se correspondería con el real.

A continuación se debe realizar una recta de calibrado, con los diferentes puntos obtenidos dependiendo de la concentración de oxígeno, para posteriormente, dependiendo del valor de fluorescencia obtenido, conocer la concentración de oxígeno con la que se trabaja en cada momento.

Una vez realizada la recta de calibrado se podrá proceder a la toma de datos experimentales para posteriormente comparar estos con los propios del fabricante de la membrana y comprobar así si los datos prácticos se asemejan a los teóricos o si por el contrario este método no es correcto.

Como parámetro de fluorescencia se ha utilizado el área de la curva de los espectros de fluorescencia entre 345 y 500 nm.

### **4.1 COMPROBACIÓN DE NO DEGRADACIÓN**

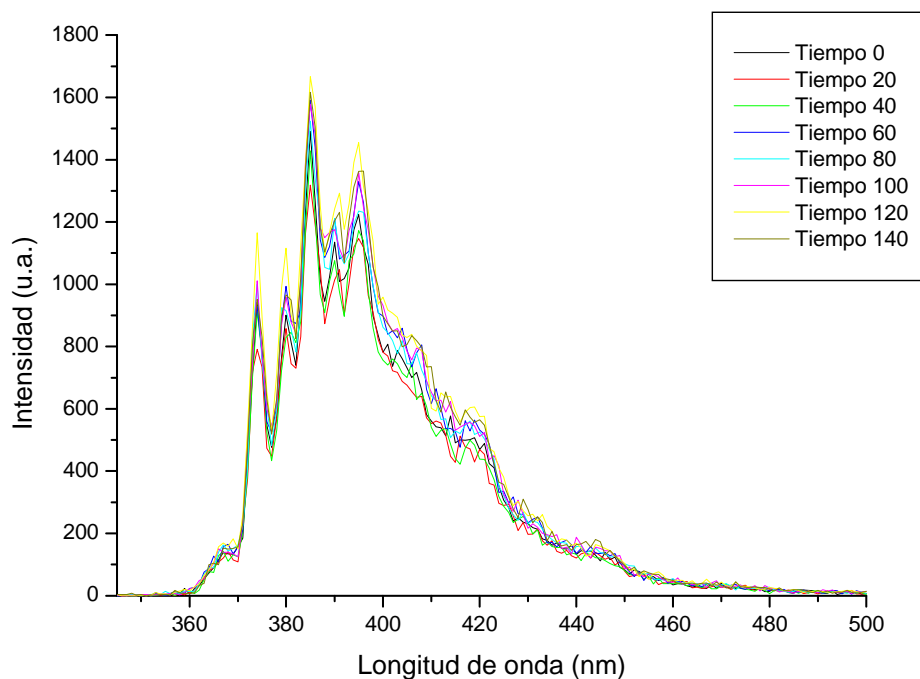
Aunque el pireno es una sonda bastante estable y no se degrada con facilidad se debe comprobar mediante la exposición directa de la sonda a la luz emitida por la lámpara del fluorímetro durante varias horas.

En este caso se colocó la fibra óptica del fluorímetro sobre el filme sin introducir ninguno de los mismos en la cámara.

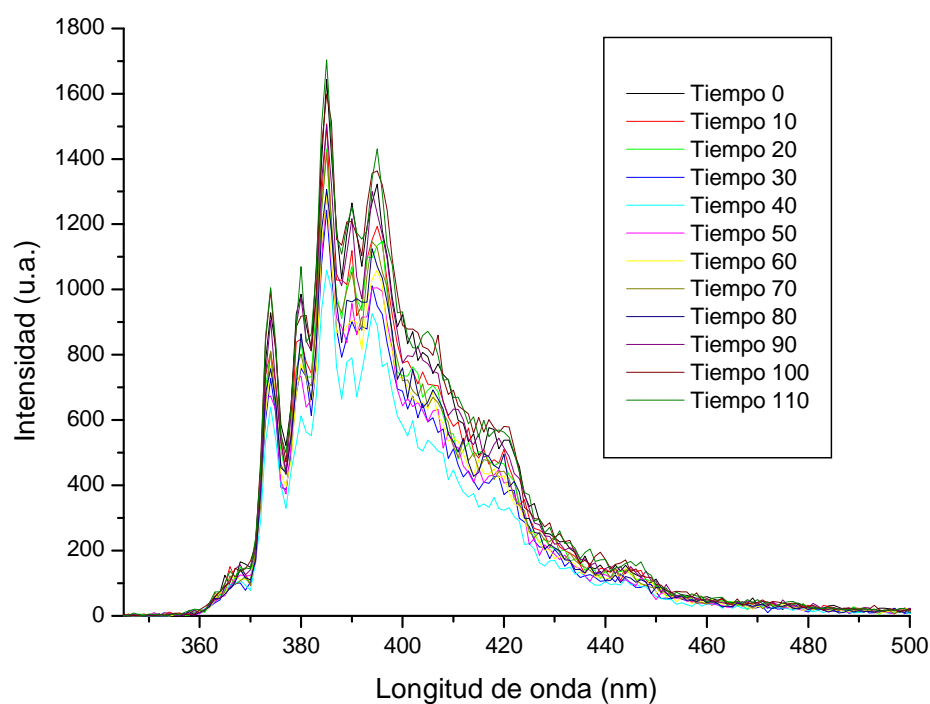
Se realizaron dos comprobaciones distintas para saber si existía degradación en la sonda. En la primera de ellas se tomaron datos cada 10 min, mientras que en la segunda se tomaron cada 20 min.

Los resultados, obtenidos en condiciones atmosféricas, fueron los siguientes (ver Figura 39 y Figura 38):

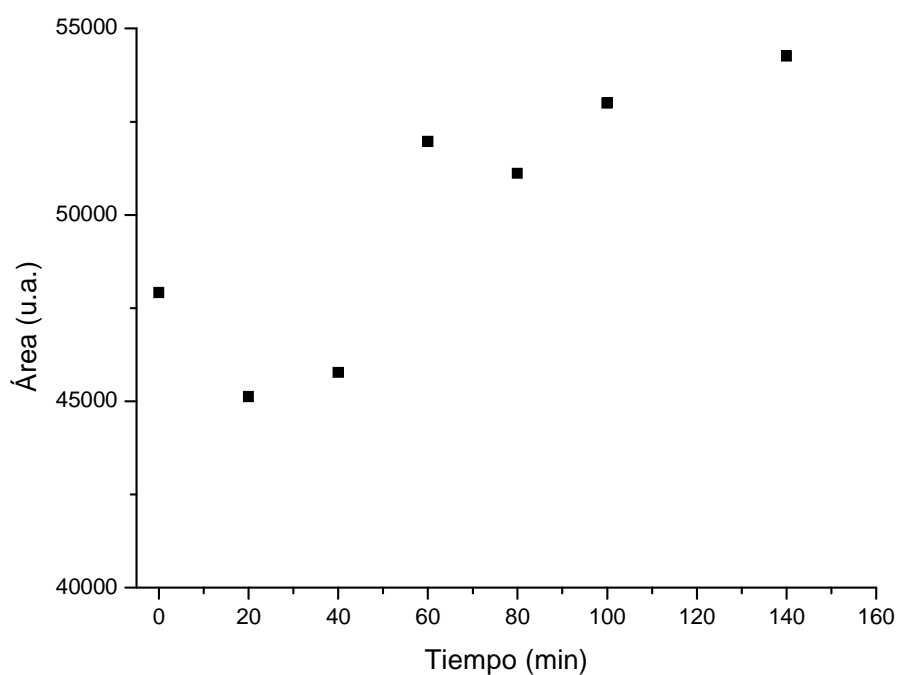
Como se puede observar la sonda no sufre degradación alguna, ya que, de sufrirla, el valor de intensidad disminuiría con el tiempo mientras que en este caso sufre variaciones independientes del tiempo y esperables en las condiciones de uso del fluorímetro.



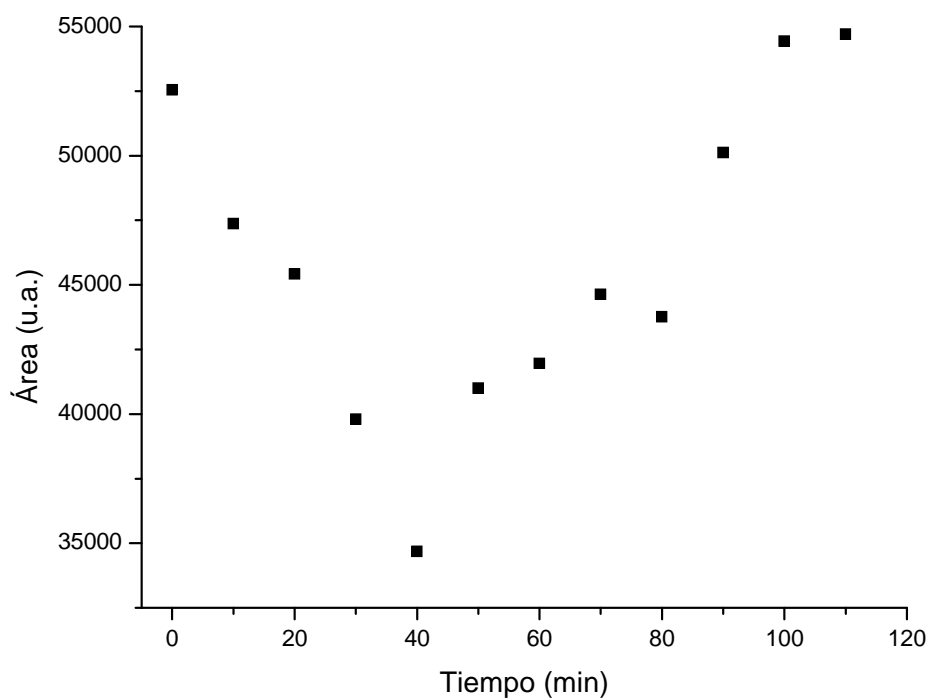
**Figura 38: Espectros de fluorescencia tomados cada 20 min**



**Figura 39: Espectros de fluorescencia tomados cada 10 min**



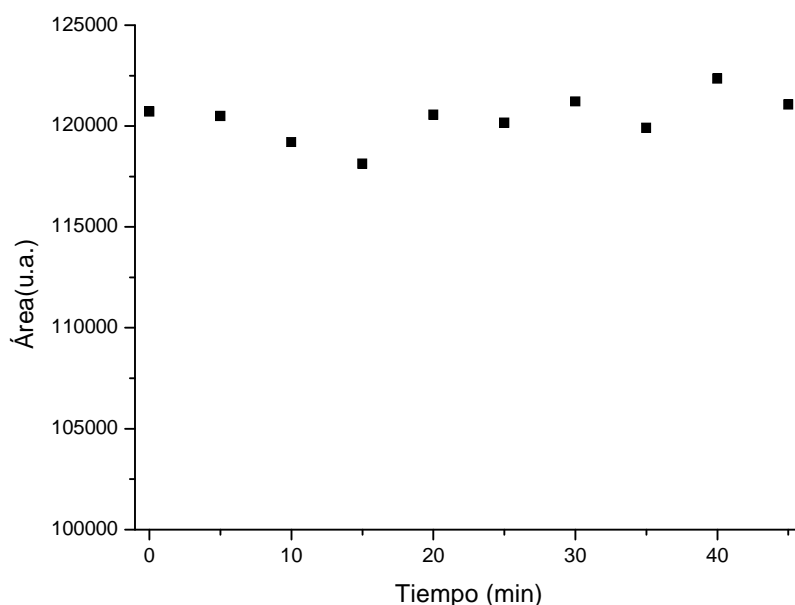
**Figura 40: Áreas correspondientes a los espectros de fluorescencia tomados cada 20 min**



**Figura 41: Áreas correspondientes a los espectros de fluorescencia tomados cada 20 min**

## 4.2 ANÁLISIS DE LA VELOCIDAD DE RESPUESTA DEL SENSOR

Una vez comprobada la no degradabilidad de la sonda, se procede a medir la velocidad de respuesta del sensor antes los cambios de presiones parciales de oxígeno.



**Figura 42: Áreas de los espectros de fluorescencia con O<sub>2</sub>**

Para realizar este análisis se procedió a llenar la cámara de N<sub>2</sub>. Tras el llenado, se tomaron datos de fluorescencia, se comenzó a llenar la cámara con oxígeno y a tomar valores de intensidad cada 5 min.

Como puede observarse en la Figura 42 los valores de concentración de oxígeno marcados por el sensor permanecen estables, lo que indica que la velocidad de respuesta de este es elevada.

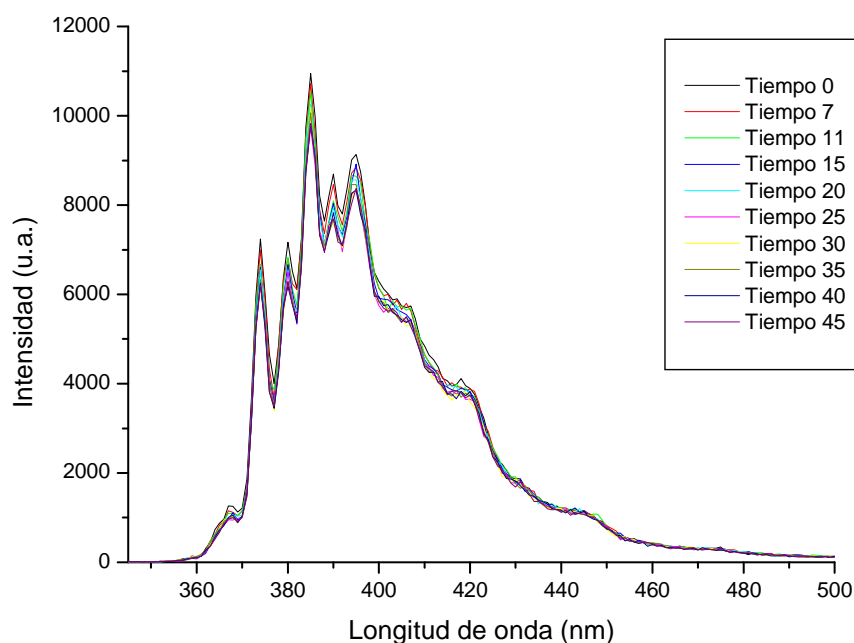
## 4.3 RECTA DE CALIBRADO

Tras comprobar que la sonda no sufre degradación alguna y que la velocidad de respuesta del sensor es alta, se procede a realizar la recta de calibrado en función de la concentración de oxígeno y de los valores de intensidad de fluorescencia de los mismos.

En un principio se intentó realizar la recta de calibrado con tres puntos, sin embargo este procedimiento resultó ser insatisfactorio (ver ANEXO C1 RECTA DE CALIBRADO CON TRES PUNTOS) por lo que se introdujo un nuevo punto y se realizó de nuevo el experimento.

Cabe destacar que todas las medidas de tiempo de este apartado se realizan en minutos.

Para ello se deben determinar cuatro puntos de intensidad de fluorescencia y relacionarlos con concentraciones conocidas de oxígeno para después hallar la recta que une dichos puntos. Gracias a esto se conocerá en todo momento el valor de la concentración de oxígeno en la cámara midiendo la intensidad de fluorescencia en la misma.

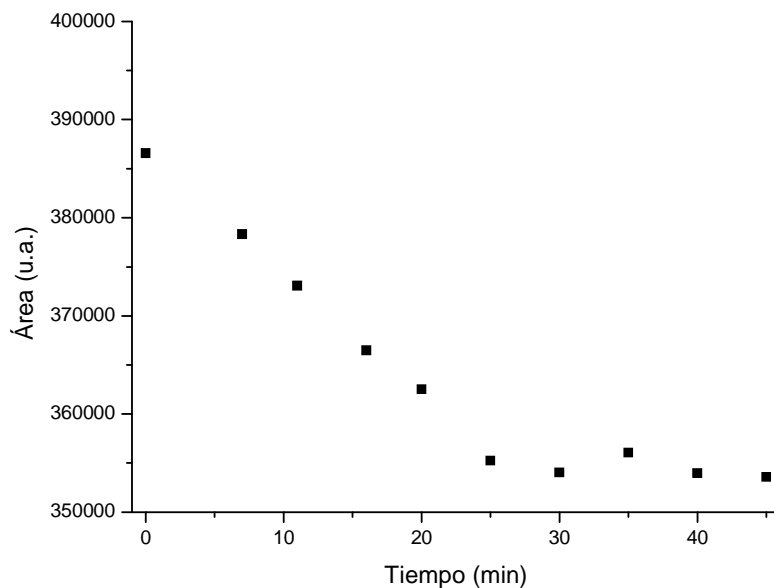


**Figura 43: Espectro de fluorescencia con nitrógeno**

El primer paso consiste en pasar nitrógeno por la cámara hasta eliminar todas las trazas posibles de oxígeno en la misma mediante el desplazamiento de este.

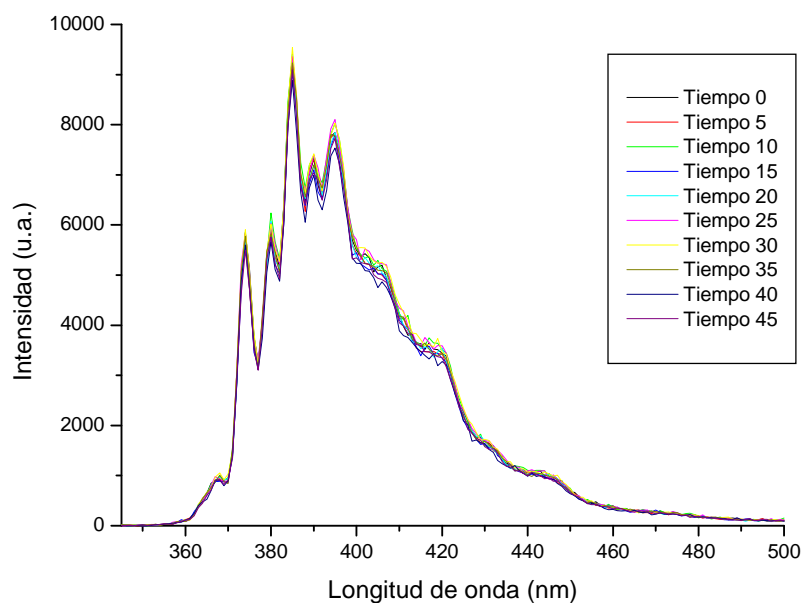
Una vez la cámara se encuentra llena de  $N_2$  se toman valores de intensidad de fluorescencia cada cinco minutos y se espera a que estos se estabilicen para hallar así un valor de intensidad que se corresponderá con el valor 0 de concentración de  $O_2$ . Los datos obtenidos se muestran en la Figura 43 y representan diferentes espectros obtenidos cada cinco minutos.

Como parámetro de fluorescencia se ha elegido el área del espectro completo. En la Figura 44 se ha representado el área del espectro de emisión del pireno cada cinco minutos hasta un total de 45.



**Figura 44: Evolución áreas con nitrógeno**

Se tomará como valor para una concentración de  $O_2$  cero la media aritmética de los áreas obtenidas en la gráfica anterior.

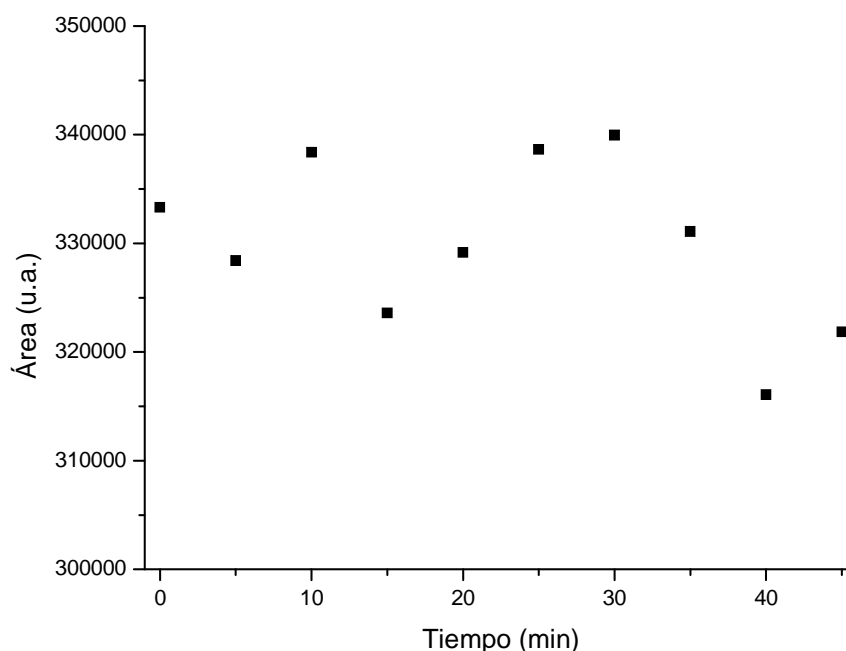


**Figura 45: Espectros de fluorescencia con mezcla**

A continuación se utiliza una bala de composición 10%  $O_2$  y 90%  $N_2$  (a la que a partir de ahora y por simplificar se denominará mezcla) para obtener el siguiente punto de la gráfica.

Se utiliza esta concentración puesto que es necesario calcular un punto intermedio entre la concentración 0 de  $O_2$  existente en el  $N_2$  y la concentración 0,21 de  $O_2$  del aire. El gas que complementa la mezcla es  $N_2$  ya que este no *quenchea* el valor de intensidad de fluorescencia y poder así asegurar que ningún otro gas salvo el oxígeno modificará este valor.

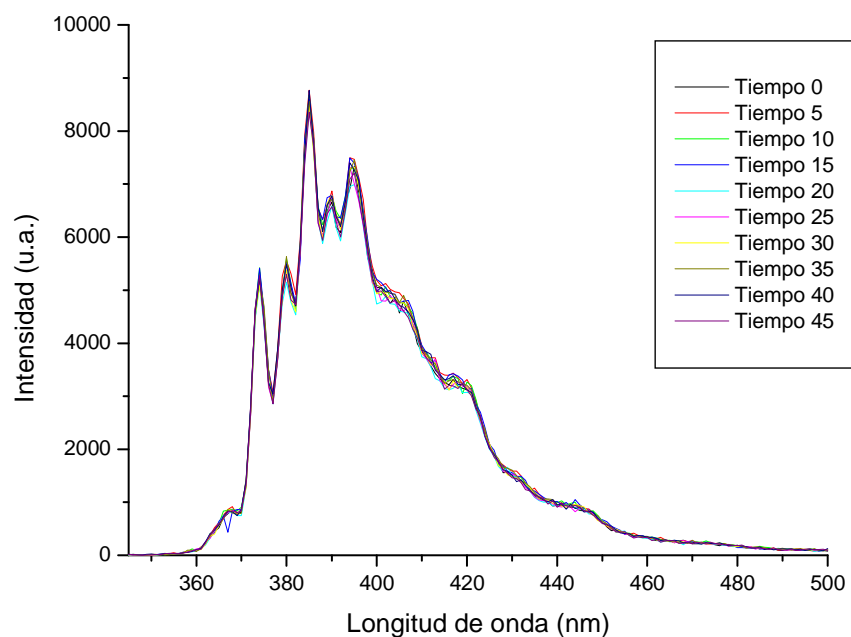
Los datos correspondientes al espectro y las áreas de la mezcla se muestran en la Figura 45 y Figura 46 respectivamente.



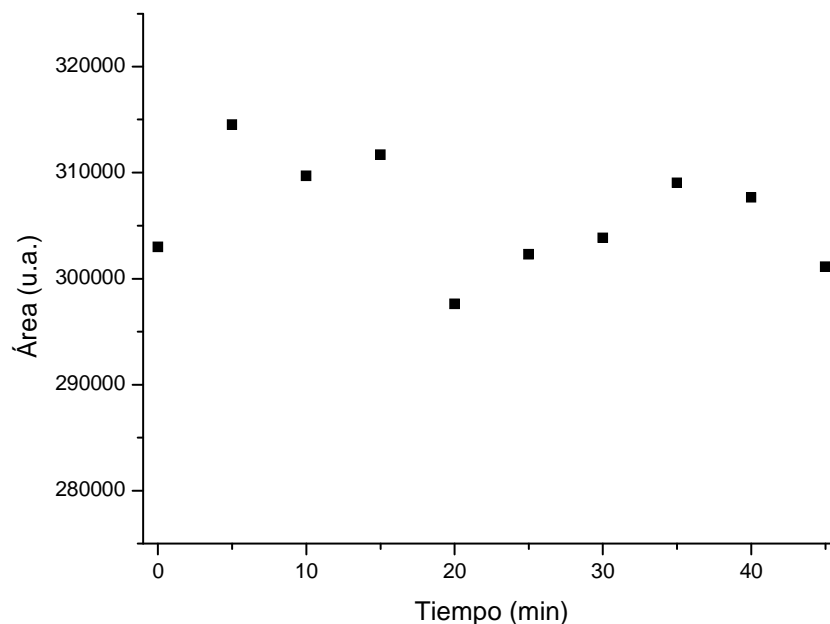
**Figura 46: Evolución áreas con mezcla**

Obteniendo la media aritmética de las medidas se halla el punto correspondiente a la fracción 0,1 de concentración de oxígeno.

Posteriormente se hace pasar aire por la cámara y se espera a que se estabilice el valor de la concentración para obtener así el valor de intensidad de fluorescencia correspondiente con el valor 0,21 de concentración de  $O_2$ . Los resultados obtenidos se muestran a continuación (ver Figura 47 y Figura 48).



**Figura 47: Espectro de fluorescencia con aire**

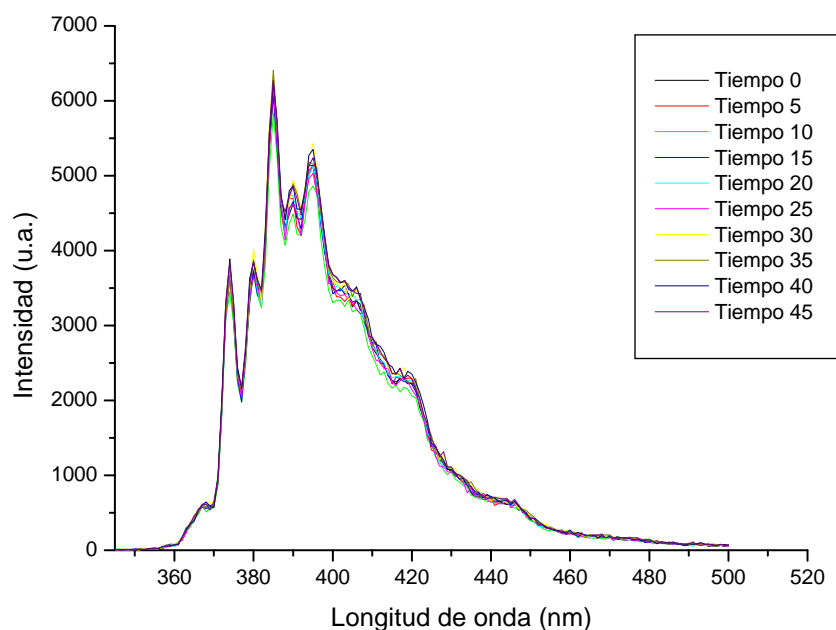


**Figura 48: Evolución áreas con aire**

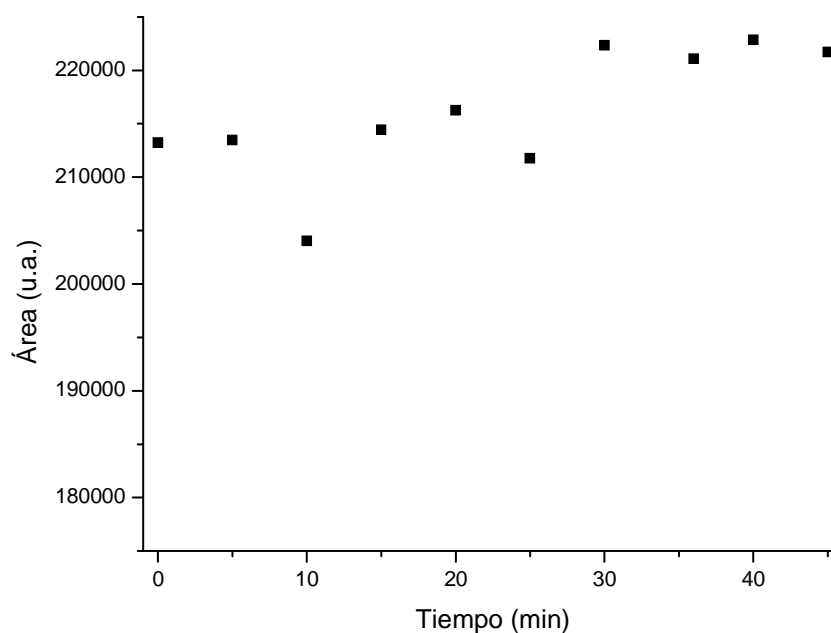
Una vez más, la media aritmética de los valores de las áreas indica el valor de concentración ( $f=0,21$ ) de oxígeno buscado.

Finalmente se procede a introducir oxígeno puro ( $f=1$ ) en la cámara.





**Figura 49: Espectros de fluorescencia con oxígeno**



**Figura 50: Evolución áreas con oxígeno**

Con la media aritmética de los puntos hallados en la Figura 50 se obtienen los cuatro puntos necesarios para la recta de calibrado.

Asumiendo que sólo existe *quenching* dinámico los puntos obtenidos deberían regirse por la expresión de Stern-Volmer (ver 2.4.1.1. Quenching dinámico), según la cual la relación entre las intensidades ( $I_0/I$ ), donde " $I_0$ " es el

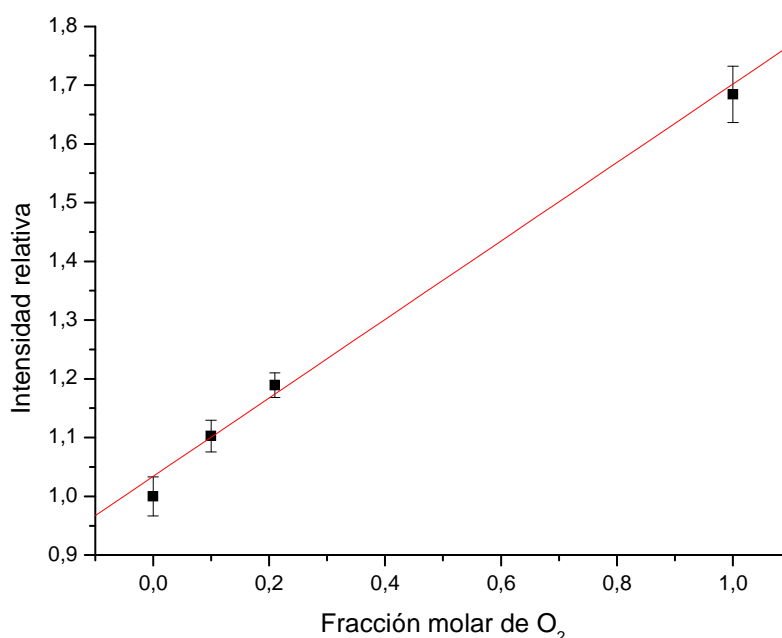
área del espectro de emisión en atmósfera de  $N_2$  (equivalente a fracción de  $O_2$  cero), e “I” corresponde al área para cada fracción de oxígeno estudiada ( $F=0,1, 0,21$  y  $1$ ) y es directamente proporcional a la concentración de *quencher* [Q], en este caso oxígeno, existente.

$$I_0 / I = 1 + K_{sv} [Q]$$

En la Figura 51 se puede observar la línea de tendencia de la intensidad relativa en cada punto y cómo esta se asemeja a una recta.

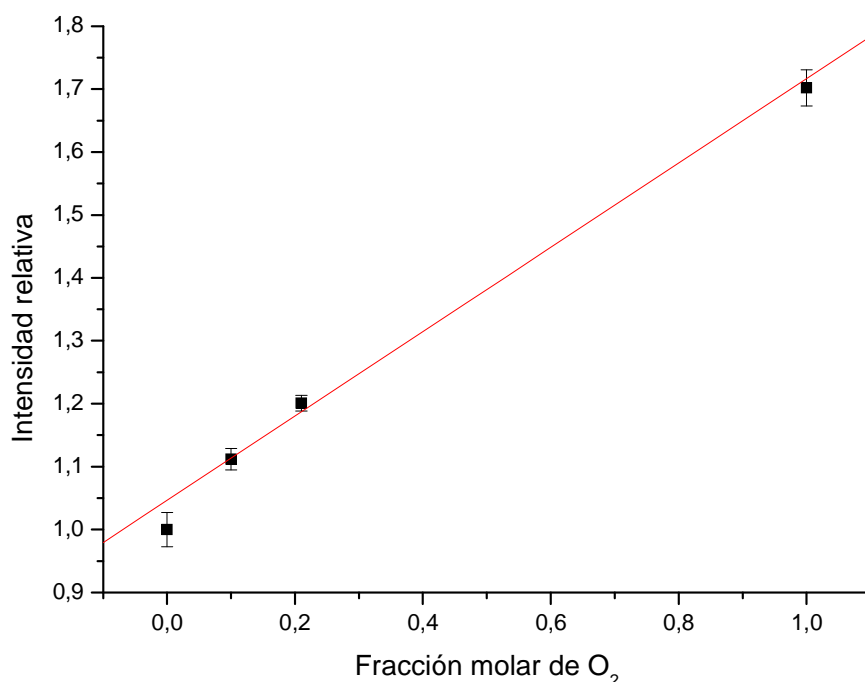
Finalmente se procede a realizar un último ensayo (ver Anexo C2 RECTA DE CALIBRADO CON CUATRO PUNTOS) para comprobar la reproducibilidad.

El valor de  $R^2$  es 0,99425. Dicho resultado implica que la aproximación es correcta y se puede utilizar esta hipótesis.



**Figura 51: Ajuste de la intensidad de fluorescencia relativa con respecto a la fracción molar de  $O_2$  correspondiente al primer ensayo**

Previamente a considerar esta gráfica cómo válida se decide representar en una nueva (ver Figura 52) los datos obtenidos en ambos ensayos.



**Figura 52: Ajuste de la intensidad de fluorescencia relativa con respecto a la fracción molar de O<sub>2</sub> utilizando ambos ensayos.**

Puede comprobarse cómo la expresión que rige esta función es bastante aproximada a la ecuación de Stern-Volmer:

$$F(X) = 1,0466 + 0,670 \cdot X$$

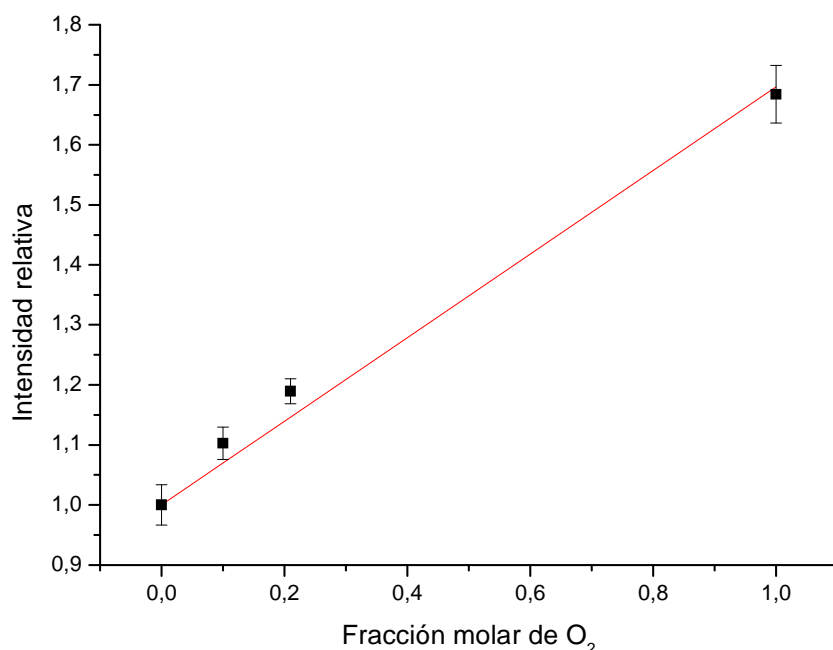
Sin embargo el término independiente debe ser exactamente 1 y, aunque el dato obtenido es muy similar, se decide forzar la recta para que concuerde con la ecuación buscada (ver Figura 53).

Puede comprobarse que, aunque el ajuste no es incorrecto, el valor de la pendiente puede estar infravalorado, ya que el último punto se encuentra desplazado hacia intensidades relativas menores con respecto al resto de puntos. Esto puede deberse a que la ecuación de Stern-Volmer no sea válida para concentraciones de oxígeno tan altas ( $f=1$ ).

Aún así se decide no descartar dicho punto y continuar realizando el análisis con el mismo.

Finalmente la expresión hallada es la siguiente:

$$F(X) = 1 + 0,71671 \cdot X$$



**Figura 53: Ajuste forzado de la intensidad de fluorescencia relativa con respecto a la fracción molar de O<sub>2</sub> utilizando ambos ensayos.**

#### 4.4 MEDICIÓN DEL PASO DE OXÍGENO A TRAVÉS DE LA MEMBRANA

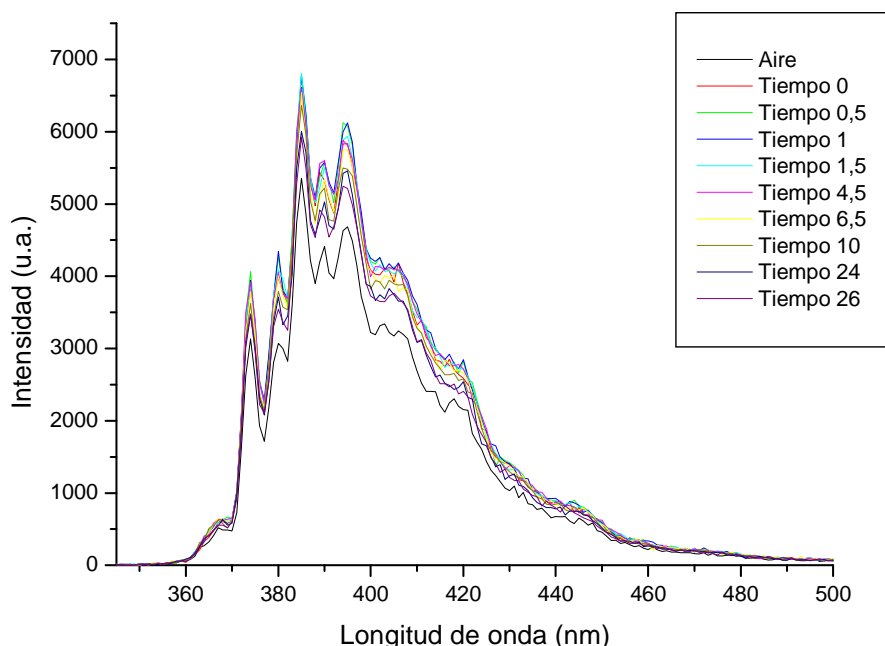
El objetivo de los siguientes ensayos consiste en la obtención de diferentes valores de fluorescencia en la cámara de medición para observar así el decaimiento de intensidad con el tiempo a medida que la concentración de oxígeno en la cámara aumenta.

A diferencia de los anteriores ensayos, que se hicieron sin la membrana intermedia que separara ambas cámaras, para la realización de este se sitúa la misma en el orificio de separación.

Para la realización de dicho ensayo primero se toma un valor de intensidad correspondiente a la concentración de oxígeno en el aire, que posteriormente será el valor que deberá alcanzar la intensidad de fluorescencia cuando las presiones parciales de oxígeno de la cámara y la precámara se hayan igualado.

Posteriormente se llenan ambas cámaras de N<sub>2</sub> desplazando así el oxígeno de las mismas.

Tras el llenado de ambas cámaras se comienza a introducir aire en la precámara y se toman los tiempos correspondientes a cada una de las medidas de intensidad.



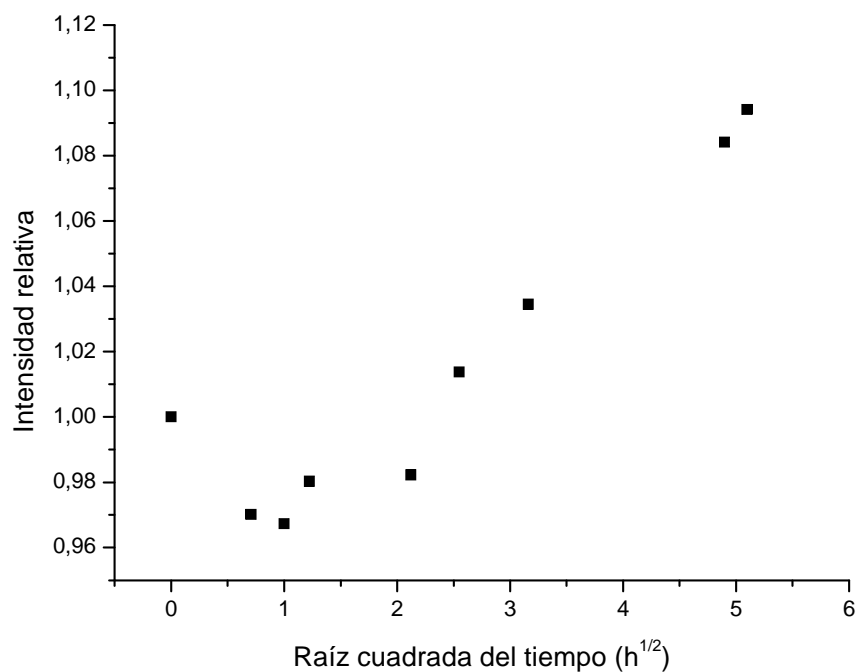
**Figura 54: Espectro de fluorescencia del ensayo de paso de oxígeno a través de la membrana**

Se puede observar en la gráfica (ver Figura 54) que los valores de intensidad de fluorescencia disminuyen con el tiempo, expresado en esta ocasión en horas, sin embargo éste es demasiado lento y la exposición del filme a una longitud de onda de tan alta energía (340 nm) podía provocar la degradación del mismo así como *photobleaching* (fotoblanqueo) en el pireno. Por este motivo se decidió interrumpir el ensayo antes de que los valores de intensidad alcanzaran los correspondientes al valor de intensidad de la concentración de oxígeno del aire. En esta gráfica también se puede observar claramente el error propio del fluorímetro, ya que durante las primeras medidas, menos espaciadas en el tiempo, los valores de fluorescencia no sólo no disminuyen sino que aumentan ligeramente en determinados casos.

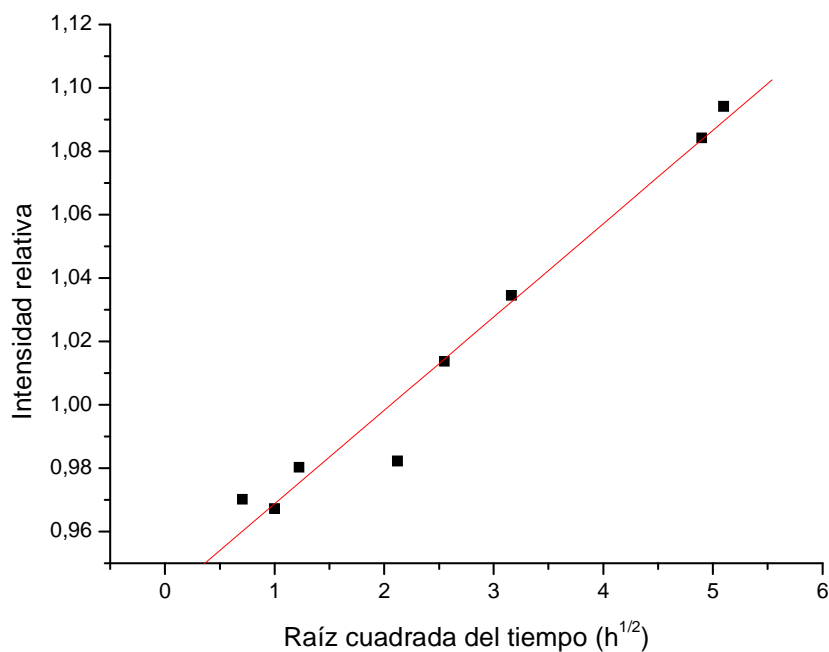
Es sabido que la concentración de un gas al atravesar una membrana varía linealmente en función de la raíz cuadrada del tiempo (cinética de difusión). Debido a esto se decide representar de esta forma en la Figura 55 para comprobar así su linealidad.

Se puede observar que el primer punto, correspondiente al tiempo inicial, se encuentra muy desplazado con respecto al resto, es por esto que se decide no considerar este punto en el ajuste considerando que puede deberse al error de lectura del fluorímetro.

Situando una línea de tendencia a la gráfica anterior se obtiene lo siguiente (ver Figura 56):



**Figura 55: Evolución intensidad relativa durante el ensayo de paso de oxígeno a través de la membrana**



**Figura 56: Línea de tendencia de la evolución de áreas durante el ensayo de oxígeno a través de la membrana**

Se puede comprobar que la relación entre ambas variables sigue la siguiente expresión:

$$F(X) = 0,93935 + 0,02945 \cdot X$$

Siendo X la raíz cuadrado del tiempo y F(X) la intensidad relativa ( $I_0/I$ ) determinada por las áreas.

Se decide utilizar cuatro tiempos arbitrarios como 5, 10, 20 y 30 horas y, mediante la expresión hallada, se determina la intensidad relativa correspondiente.

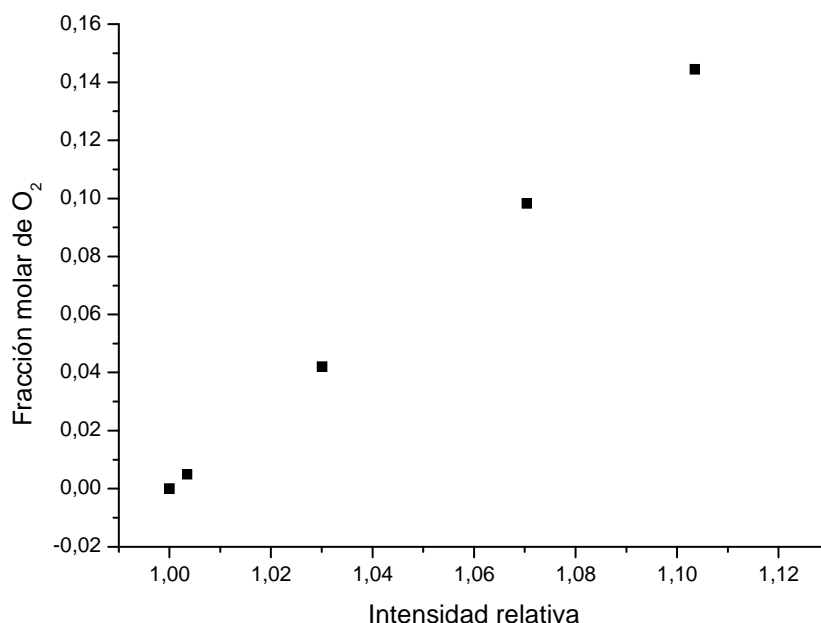
$$F(\sqrt{5}) = 1,0035$$

$$F(\sqrt{20}) = 1,0704$$

$$F(\sqrt{10}) = 1,0301$$

$$F(\sqrt{30}) = 1,1035$$

A continuación se procede a introducir los valores obtenidos en la recta de calibrado para obtener las presiones parciales de oxígeno. Los datos obtenidos se muestran en la Figura 57.



**Figura 57: Representación de los resultados obtenidos**

Los datos parecen asemejarse al modelo calculado puesto que, al igual que sucedió en el ensayo, en ningún momento se igualan las presiones parciales de oxígeno en las cámaras.

Cómo se observa en la Figura 56, en el tiempo utilizado para el ensayo (30 horas), no se ha alcanzado un *plateau*, por lo que hemos limitado nuestro

resultados a la obtención de la concentración de  $O_2$  que atraviesa la membrana para los diferentes tiempos: 5 h, 10 h, 20 h y 30 h

Se procedió a realizar el ensayo de nuevo, sin embargo, debido a diversos factores no se repitieron los mismos resultados que en el ensayo inicial. Pudiendo ser estos los siguientes:

1. Degradación del filme de LDPE debido principalmente al largo de periodo de exposición a la luz UV (la longitud de onda de excitación del Py fue de 340 nm).
2. Posible degradación de la sonda (fotodegradación).
3. No recuperación de las condiciones iniciales, pudiendo existir trazas de  $O_2$  no eliminadas en el interior del filme.
4. Factores externos: temperatura, Intensidad de la lámpara etc.





## ***CAPÍTULO V***

---

# **CONCLUSIONES Y MEJORAS**

## 5 CONCLUSIONES Y MEJORAS

En este capítulo se pretenden extraer las conclusiones del trabajo realizado así como proponer mejoras y soluciones a los problemas acontecidos durante la realización del mismo.

### 5.1 CONCLUSIONES

Tras la realización del trabajo se puede asegurar que se han completado numerosos hitos propuestos.

La cámara fabricada cumple todos los requisitos indicados y puede ser reutilizada para la continuación del proyecto.

La obtención de la recta de calibrado puede servir para un posterior estudio del problema desde una perspectiva distinta.

El sistema diseñado tiene una respuesta muy rápida ante el cambio de concentración de oxígeno, por lo que el comportamiento del filme es satisfactorio.

Los resultados obtenidos, a falta de conseguir repetibilidad en los mismos, son satisfactorios.

### 5.2 POSIBLES MEJORAS Y TRABAJOS FUTUROS

Durante la realización del proyecto y a medida que se avanzó en el mismo se observaron diversas áreas de mejora a considerar de cara a la planificación, elaboración y desarrollo de nuevas investigaciones que continúen la línea que se ha emprendido en este trabajo.

Cabe destacar que, para el diseño del filme, se priorizó la rápida difusión del oxígeno a través del mismo sobre la posible degradación de este.

Entre las posibles mejoras a introducir en el proyecto se encuentran las siguientes:

- Disminuir el tiempo de difusión del oxígeno a través de la membrana para membranas con bajos coeficientes de difusión, para ello existen diversas opciones tales como:
  - Aumentar el área de intercambio de gases. Para ello se debe diseñar y construir una modificación de la cámara que permita la utilización de membranas de mayor diámetro.

- Reducir el volumen de la cámara de media, introduciendo o colocando algún elemento o diseñando una nueva cámara.
- Comprobar la concentración real de oxígeno en la cámara mediante algún sensor standard de oxígeno. Esto permitiría conocer los valores de concentración de oxígeno de la cámara en cada momento y comparar estos con los detectados en el filme, pudiendo así comprobar la velocidad de difusión del mismo.
- Asegurar la correcta colocación del filme. Esto puede realizarse mediante dos opciones:
  - La fabricación de una pieza ajustable a la guía de luz.
  - El uso de una guía de luz exclusivamente para este proyecto adhiriendo el filme químicamente a esta.
- Utilizar la opción de acumulación de espectros del fluorímetro para disminuir los errores lectura.



## ***CAPÍTULO VI***

---

# **BIBLIOGRAFÍA.**

## 6 BIBLIOGRAFÍA.

- [Abramowitz,2010] Abramowitz, M., Davidson, M.W. (2010). "Introduction to fluorescence". [www.olympusmicro.com/primer/lightandcolor/fluorointroduction.html](http://www.olympusmicro.com/primer/lightandcolor/fluorointroduction.html) (Última visita 15/10/2010)
- [Cakin,2008] Cakin, D., (2008). "Review of Determination Methods of Dissolved Oxygen in Environmental Samples". "Design, Characterization, and Application of Spectrometers for Determination of Low-Level Dissolved Oxygen with Small-Volume Sampling Methodology". Oregon State University.
- [David,2003] David, A., Chang-Yen, Gale, B. K. (2003). "An integrated optical oxygen sensor fabricated using rapid-prototyping techniques". *Lab Chip*, **3**, 297-301.
- [Davis,2009] Davis, R. (2009) "Fluorescent Dissolved Oxygen Sensors for aeration Monitor & Control". [www.insiteig.com/pdfs/PEN%20Article.PDF](http://www.insiteig.com/pdfs/PEN%20Article.PDF) (Última visita 15/10/2010)
- [Epidor,2010] Epidor. (2010). "Juntas Tóricas, Juntas EQ". [http://www.epidor.com/documentos/B-JuntasToricas\\_JuntasEQ.pdf](http://www.epidor.com/documentos/B-JuntasToricas_JuntasEQ.pdf) (Última visita 15/10/2010)
- [Llorente,1991] Llorente, M.A., Horta, A. (1991). "Técnicas de caracterización de polímeros". UNED. Madrid.
- [Martin,1999] Martin, M. F., Xiao, C., Xiao, D. (1999). "Linear calibration function of luminescence quenching-based optical sensor for trace oxygen analysis". *Analyst*. **124**. 695-698.
- [Serrano,2010] Serrano, B. (2010). Comunicación personal.
- [Uğur,2009] Uğur, S., Yargı, Ö. Pekcan, Ö. (2009). "Oxygen diffusion into polystyrene-bentonite films". *Applied Clay Science*, **43**, 447-452
- [Valeur,2001] Valeur, B. (2001). "Molecular Fluorescence: Principles and Applications". Wiley-VCH. Weinheim.
- [Werther,2009] Werther, J. (2009). "Schematic of a Spectrofluorometer". [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Schematic\\_of\\_a\\_Spectrofluorometer.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Schematic_of_a_Spectrofluorometer.jpg) (Última visita 15/10/2010)



## ***ANEXO A***

---

# **PIEZAS FABRICADAS**

## ANEXO A. PIEZAS FABRICADA

### A.1. CÁMARA DE MEDIDA Y TAPA MEMBRANA







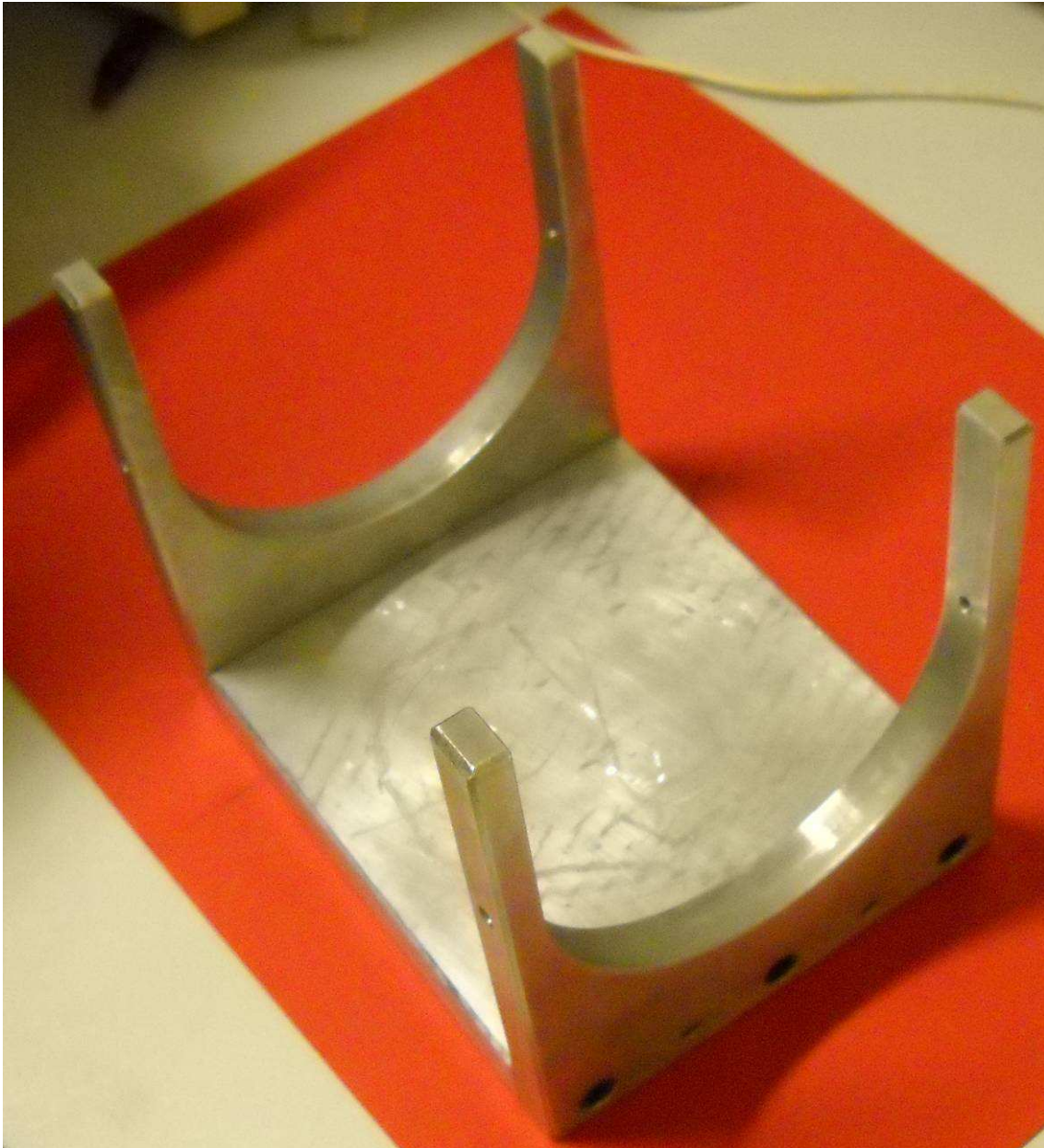
## A.2. PRECÁMARA







### A.3. SOPORTE



#### A.4. TAPA DE LA CÁMARA DE MEDIDA



## A.5. PIEZA ENSAMBLADA Y EN EL SOPORTE









## ***ANEXO B***

---

# **EQUIPOS UTILIZADOS**

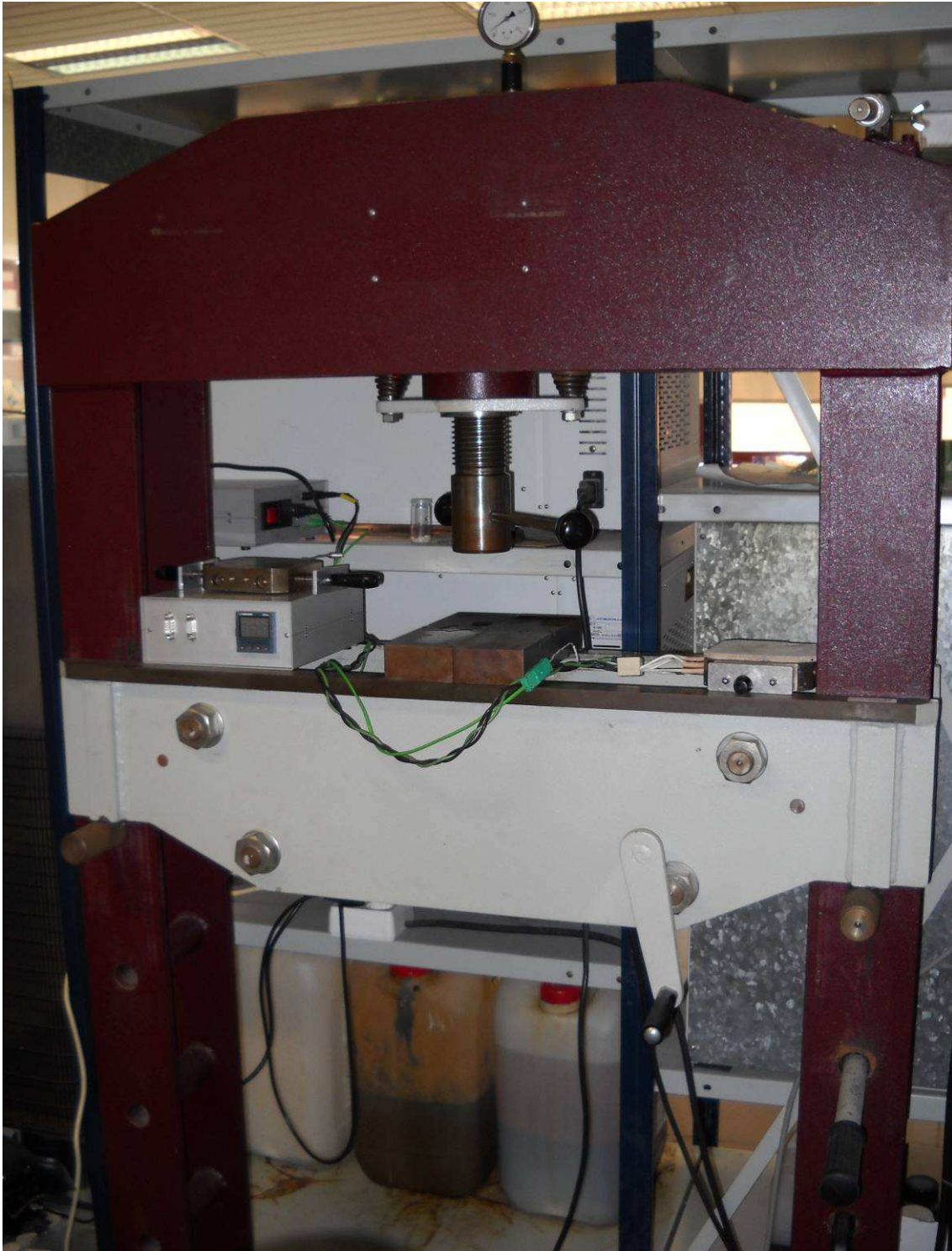
## ANEXO B. EQUIPOS UTILIZADOS

### B.1. FLUORÍMETRO





## B.2. PRENSA DE PLATOS CALIENTES





## ***ANEXO C***

---

# **RECTA DE CALIBRADO**

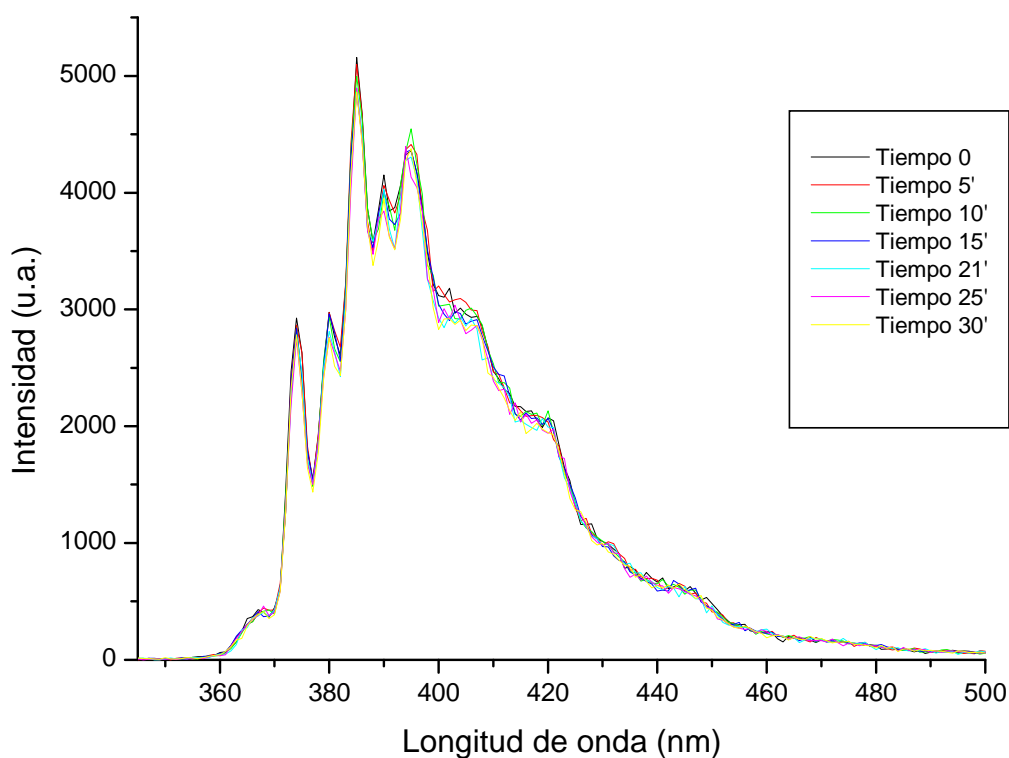
## ANEXO C. RECTA DE CALIBRADO

### C.1. RECTA DE CALIBRADO CON TRES PUNTOS

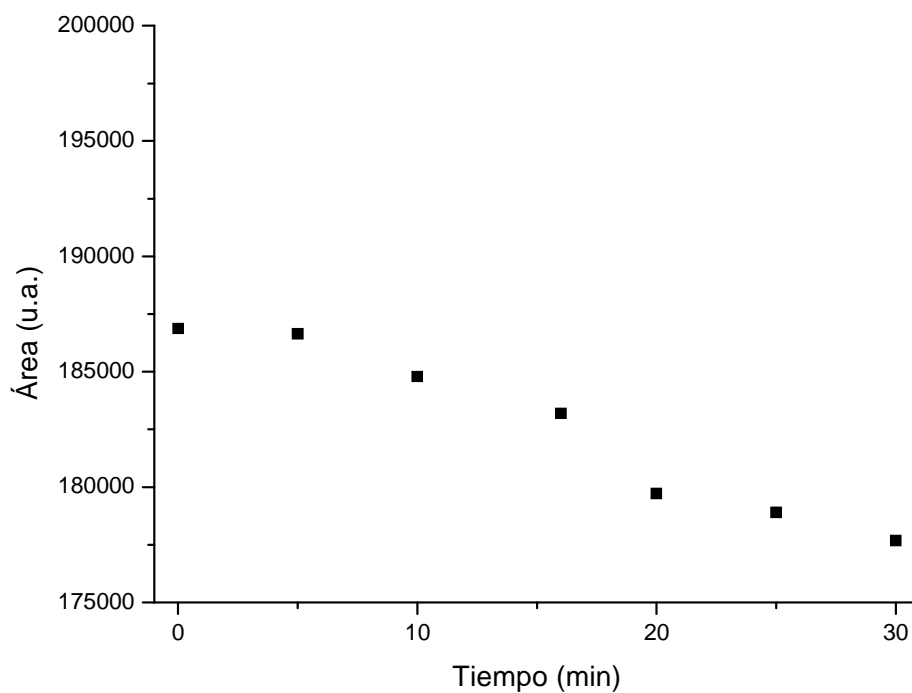
Antes de intentar calcular la recta de calibrado se intentó obtener esta mediante tres puntos únicamente. El procedimiento es análogo al realizado para la obtención de la recta con cuatro puntos con la salvedad de no existir el punto denominado mezcla.

**A continuación se muestran los resultados de dichos ensayos (ver Figura 58, Figura 59, Figura 60, Figura 61, Figura 62 y**

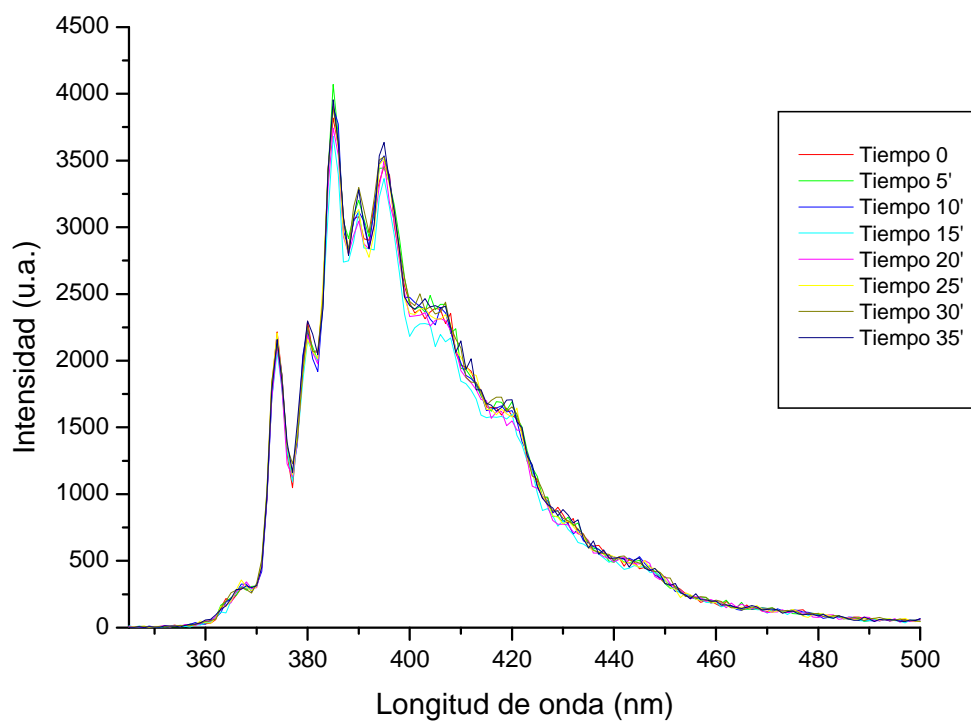
**Figura 63).**



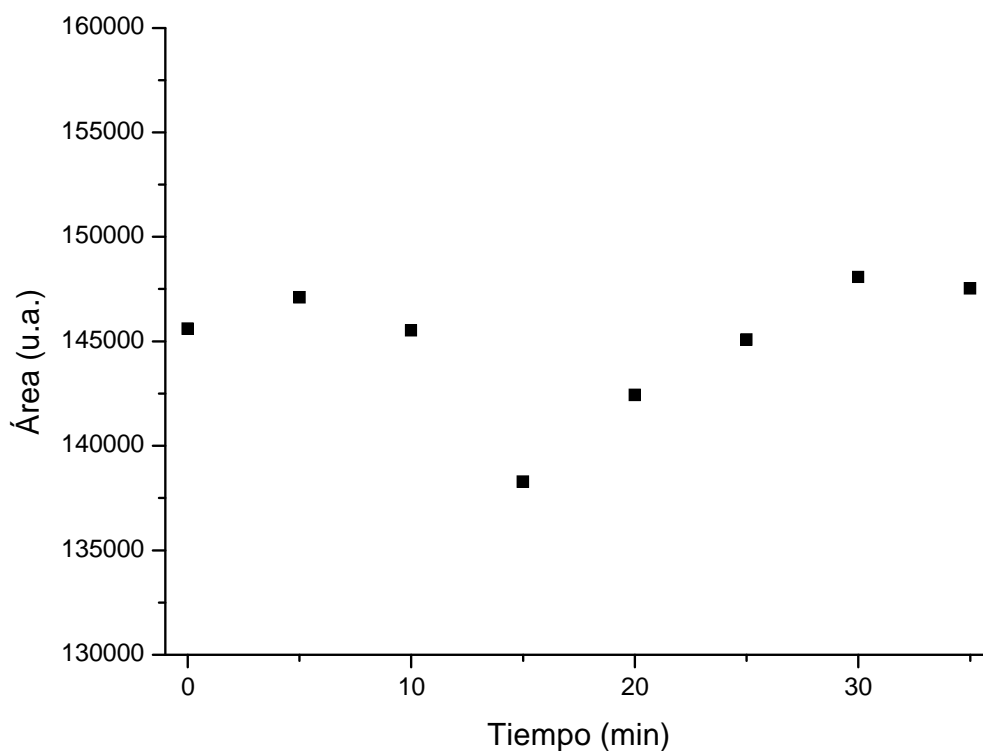
**Figura 58: Espectro fluorescencia con nitrógeno primer ensayo**



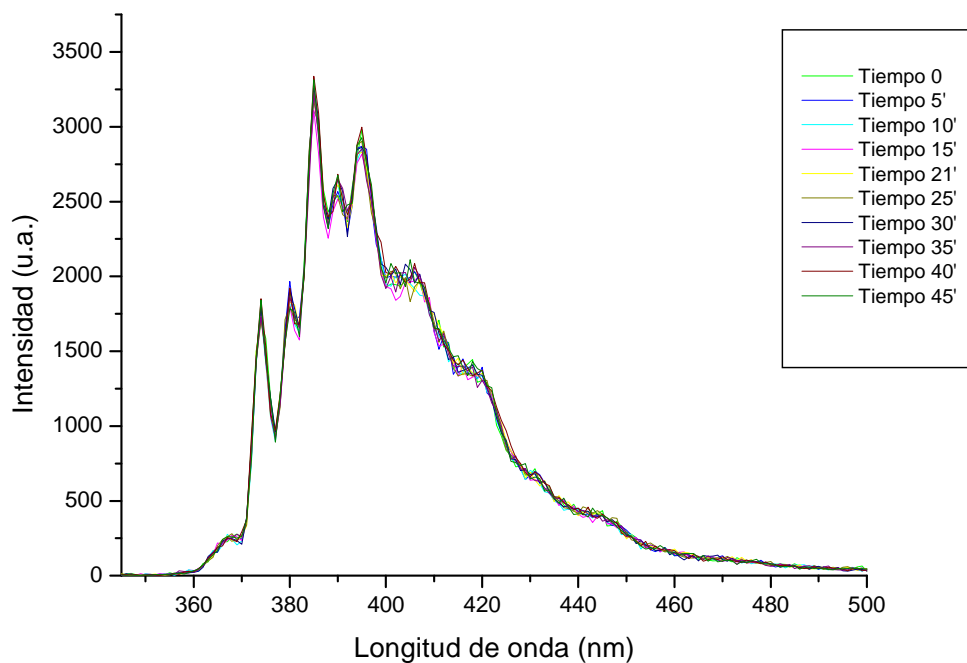
**Figura 59: Evolución área nitrógeno primer ensayo**



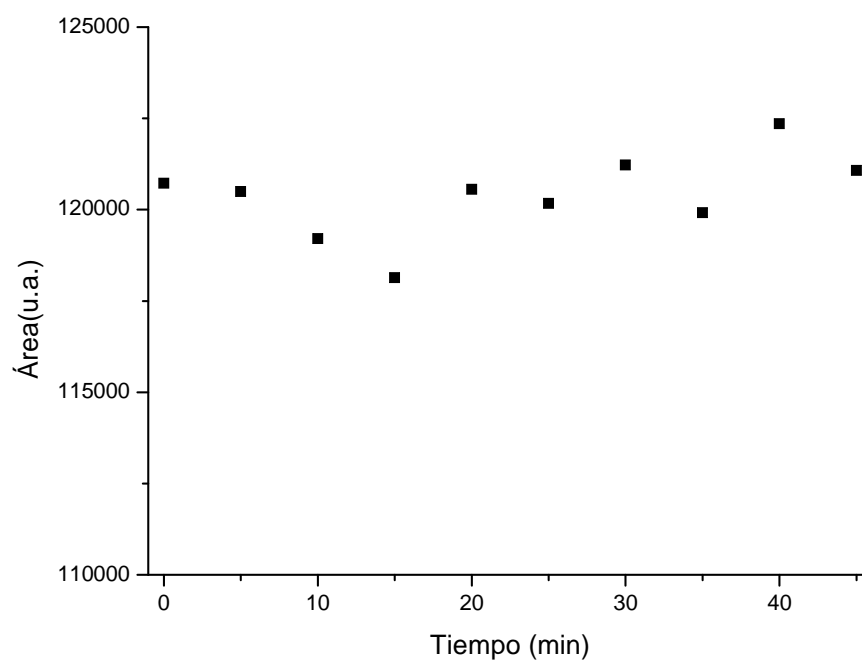
**Figura 60: Espectro de fluorescencia con aire primer ensayo**



**Figura 61: Evolución del área con aire primer ensayo**

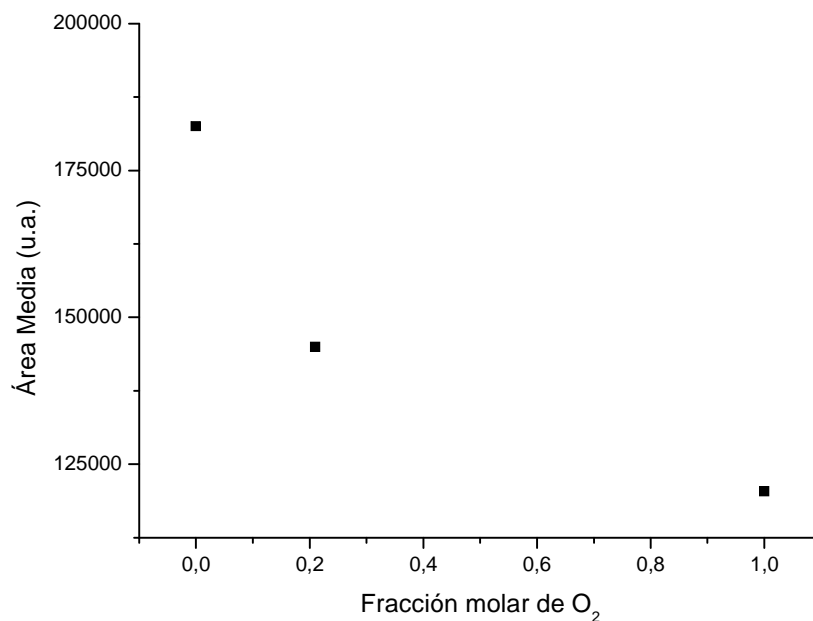


**Figura 62: Espectro de Fluorescencia con oxígeno primer ensayo**



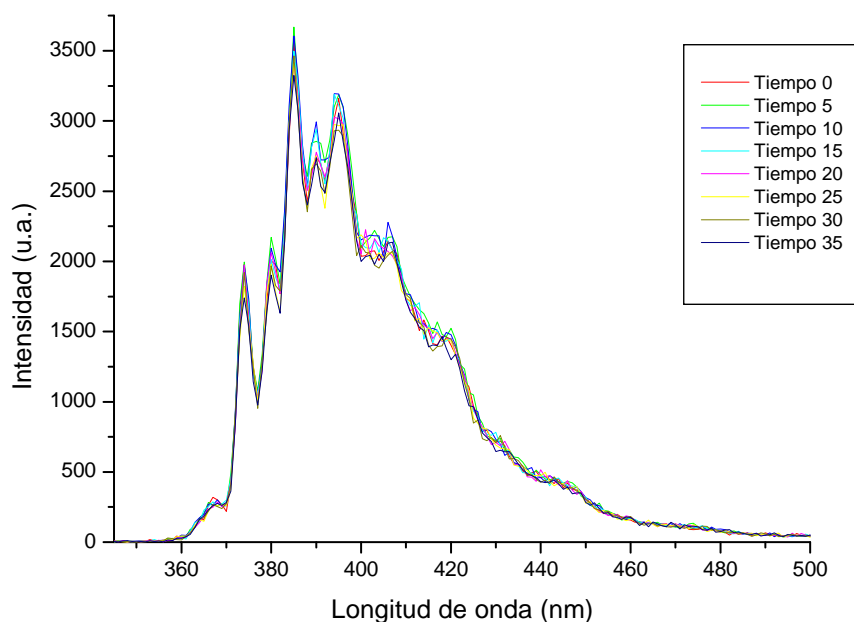
**Figura 63: Evolución área con oxígeno primer ensayo**

Representando ahora las áreas medias obtenidas frente a la fracción molar correspondiente de O<sub>2</sub> se obtiene la siguiente gráfica (ver Figura 64)

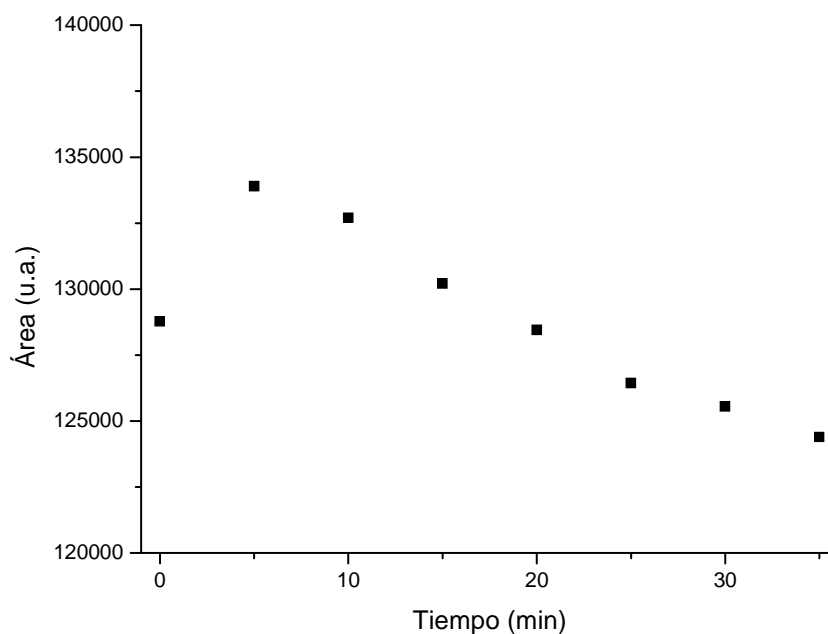


**Figura 64: Recta de evolución de la fluorescencia en función de la concentración de O<sub>2</sub> primer ensayo**

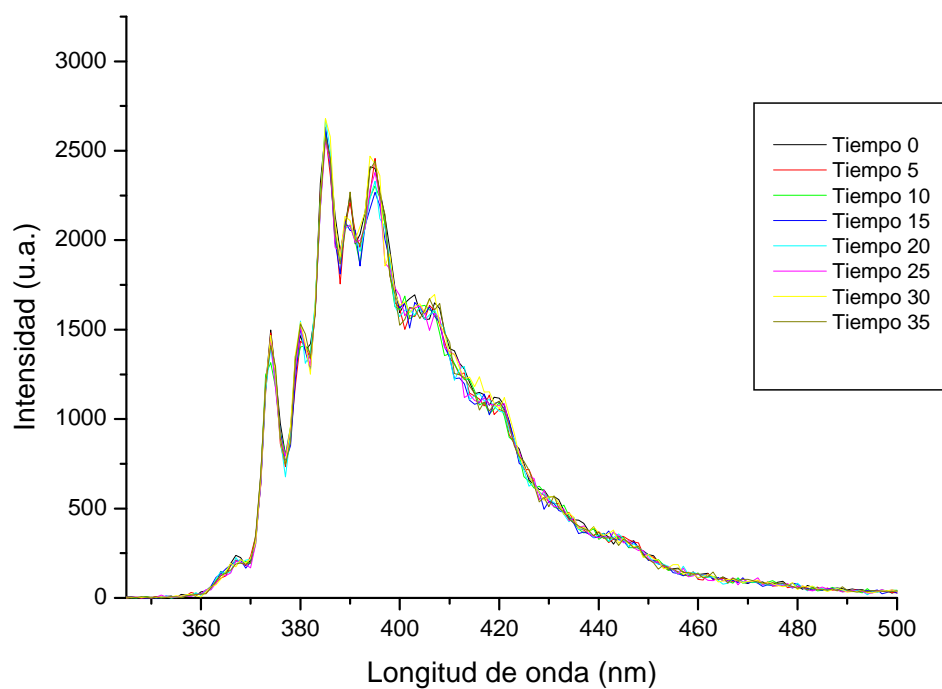
Este resultado no es satisfactorio, ya que el comportamiento de la gráfica no corresponde a una recta tal y como debería ser observando la expresión de Stern-Volmer (ver punto 2.4.1.1. Quenching dinámico), por lo que se proceden a realizar todas las medidas de nuevo (denominaremos a este el segundo ensayo) (ver Figura 65, Figura 66, Figura 67, Figura 68, Figura 69 y Figura 70).



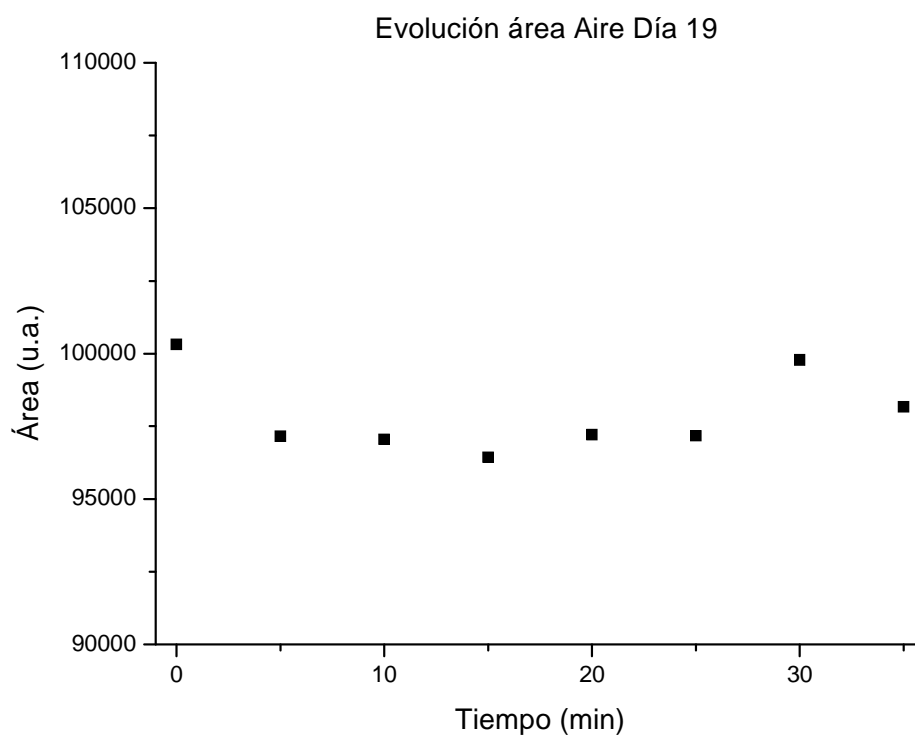
**Figura 65: Espectro de fluorescencia con nitrógeno segundo ensayo**



**Figura 66: Evolución área nitrógeno segundo ensayo**

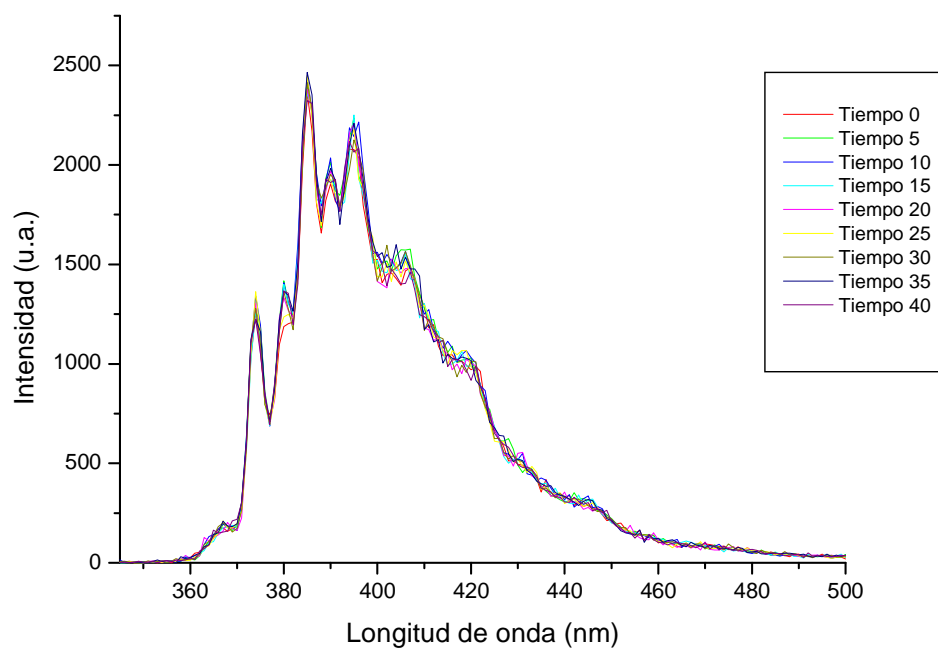


**Figura 67: Espectro fluorescencia con aire segundo ensayo**

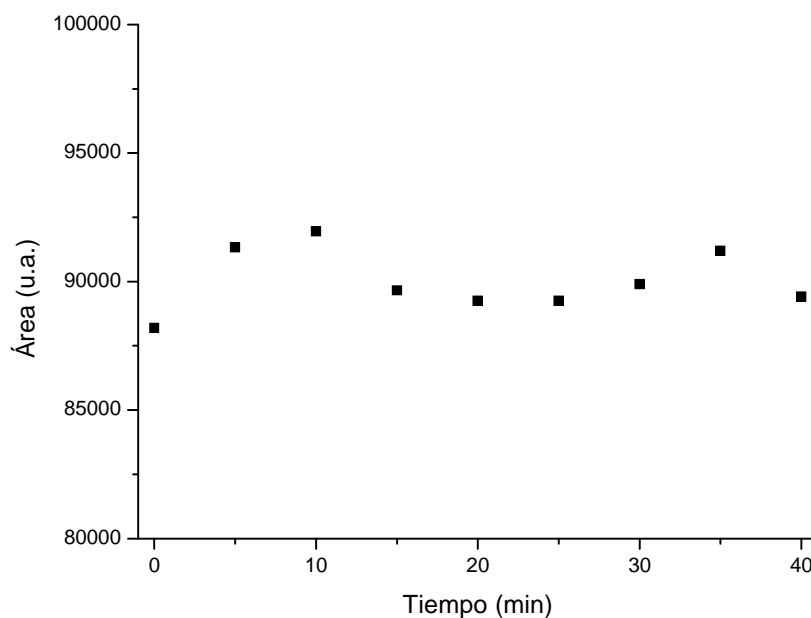


**Figura 68: Evolución área aire segundo ensayo**



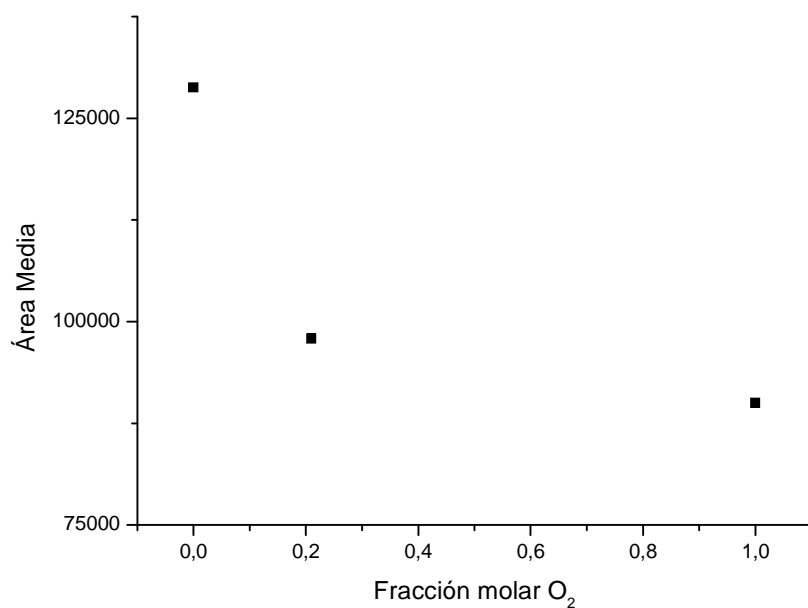


**Figura 69: Espectro fluorescencia con oxígeno segundo ensayo**



**Figura 70: Evolución área con oxígeno segundo ensayo**

Por último se calcula de nuevo la gráfica y la línea de tendencia de la misma (ver Figura 71y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

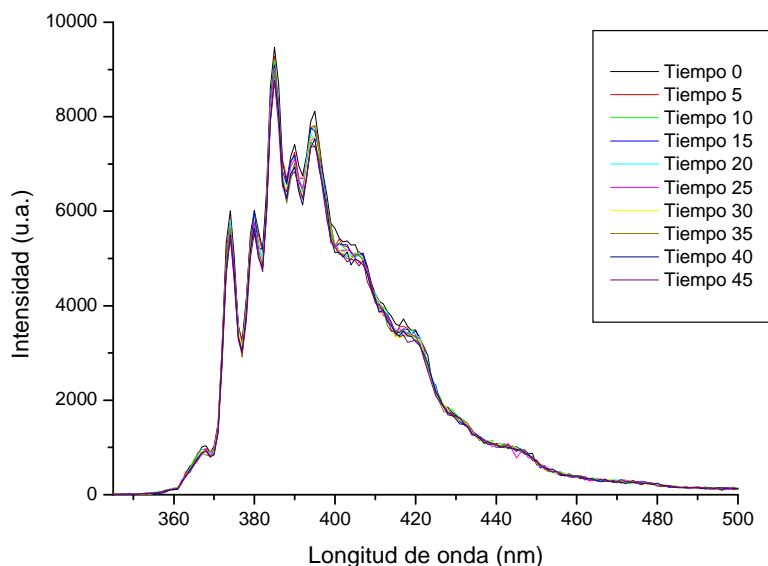


**Figura 71: Recta de evolución de la fluorescencia en función de la fracción molar de O<sub>2</sub> segundo ensayo**

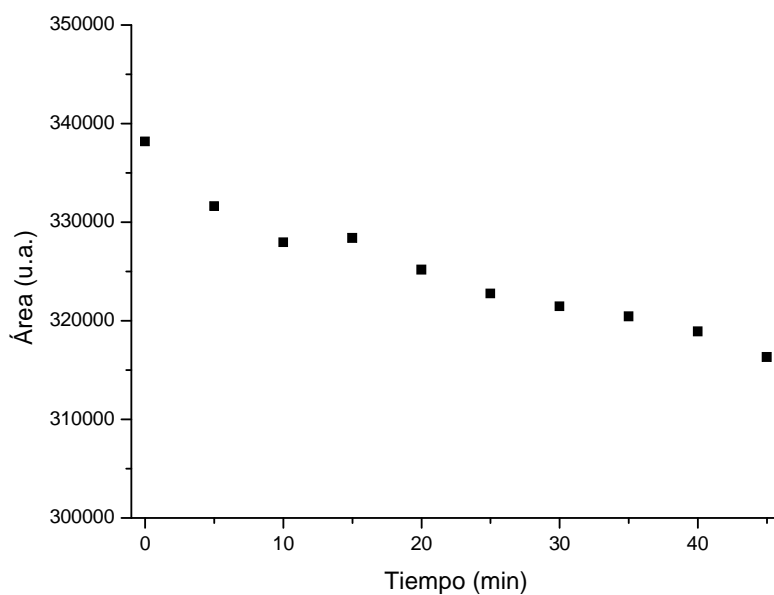
Una vez más se observa que los resultados no son satisfactorios por lo que se tiene que hallar un cuarto punto para calcular correctamente la recta de calibrado.

## C.2. RECTA DE CALIBRADO CON CUATRO PUNTOS

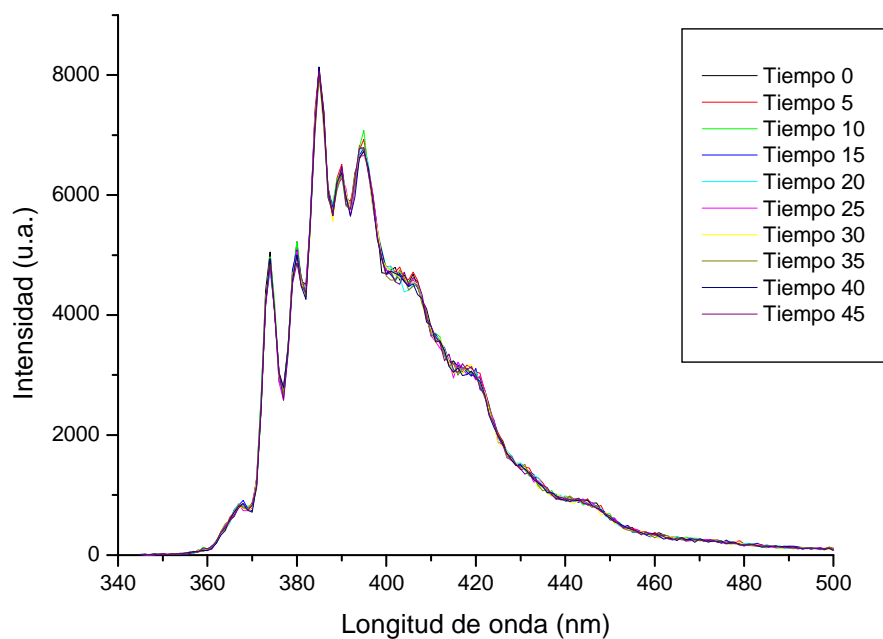
A continuación se detallan las gráficas obtenidas durante el segundo ensayo utilizando cuatro puntos para la recta de calibrado(ver Figura 72, Figura 73, Figura 74, Figura 75, Figura 76, Figura 77, Figura 78 y Figura 79).



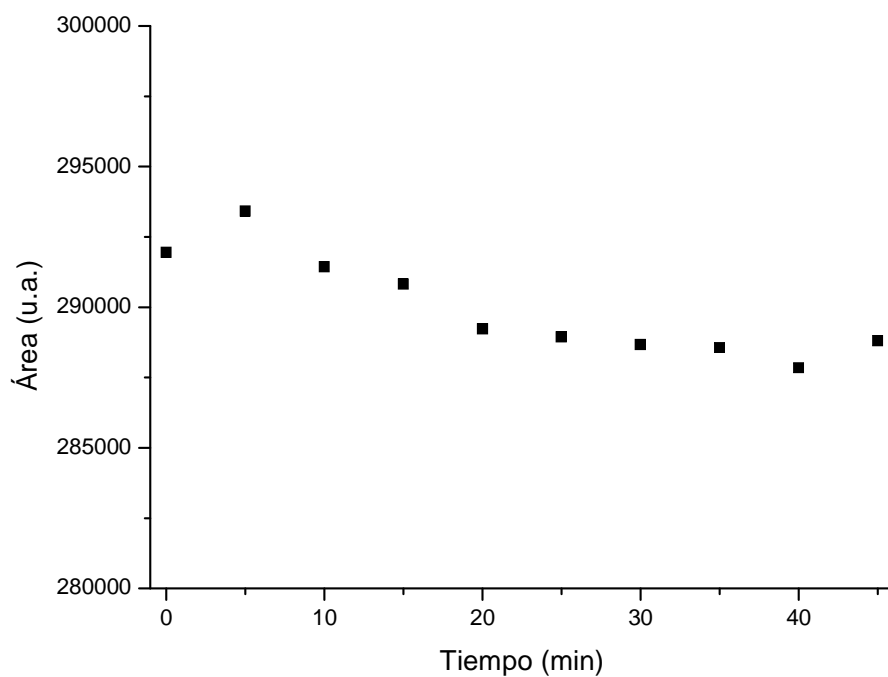
**Figura 72: Espectros de fluorescencia con nitrógeno segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos**



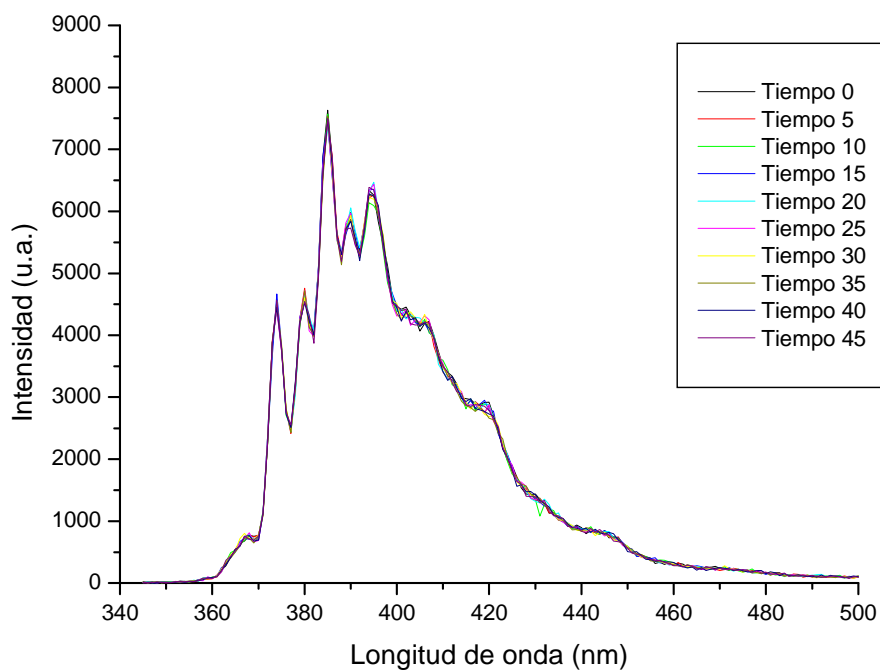
**Figura 73: Evolución áreas con nitrógeno segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos**



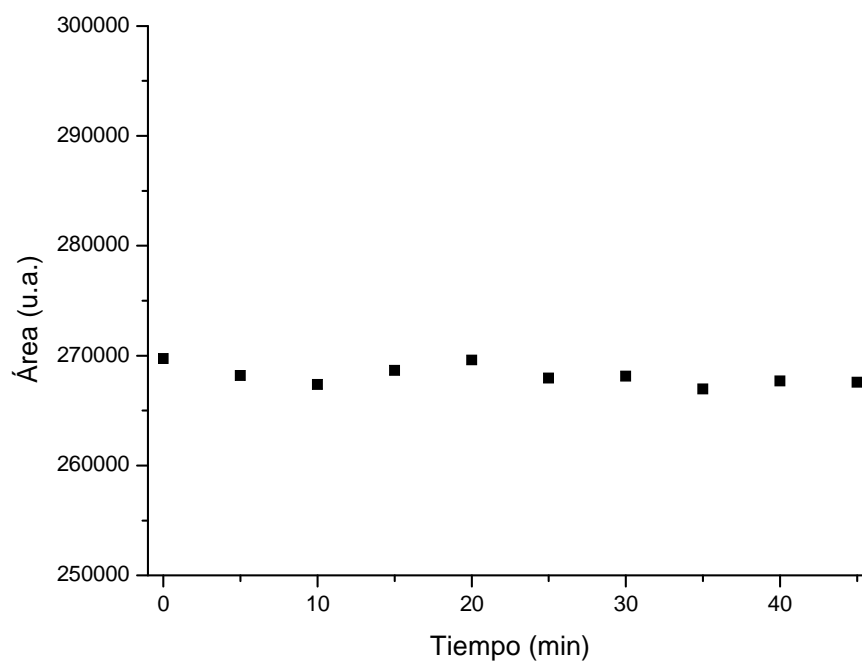
**Figura 74: Espectros de fluorescencia con mezcla segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos**



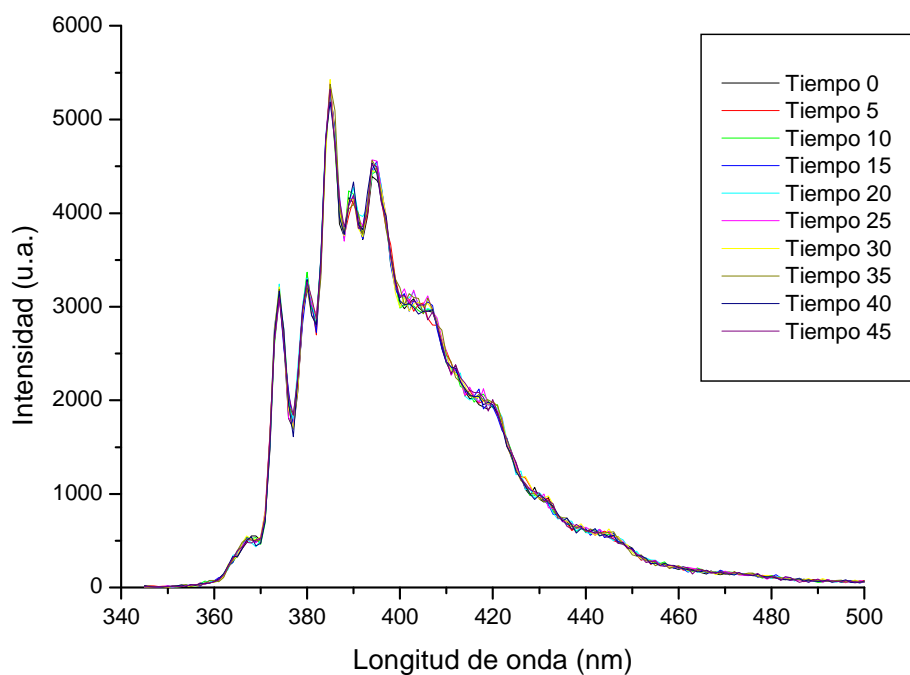
**Figura 75: Evolución áreas con mezcla segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos**



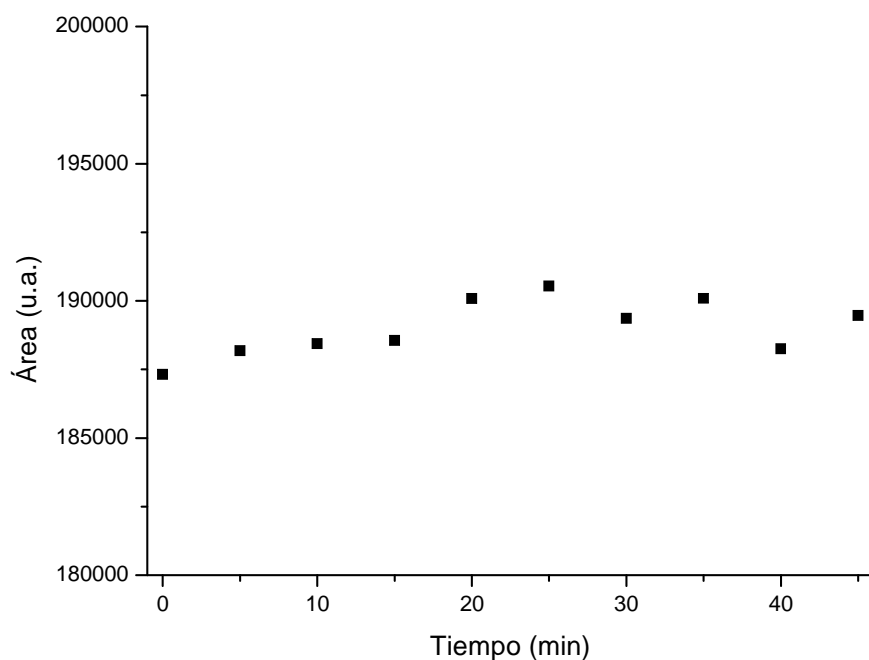
**Figura 76: Espectros de fluorescencia con aire segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos**



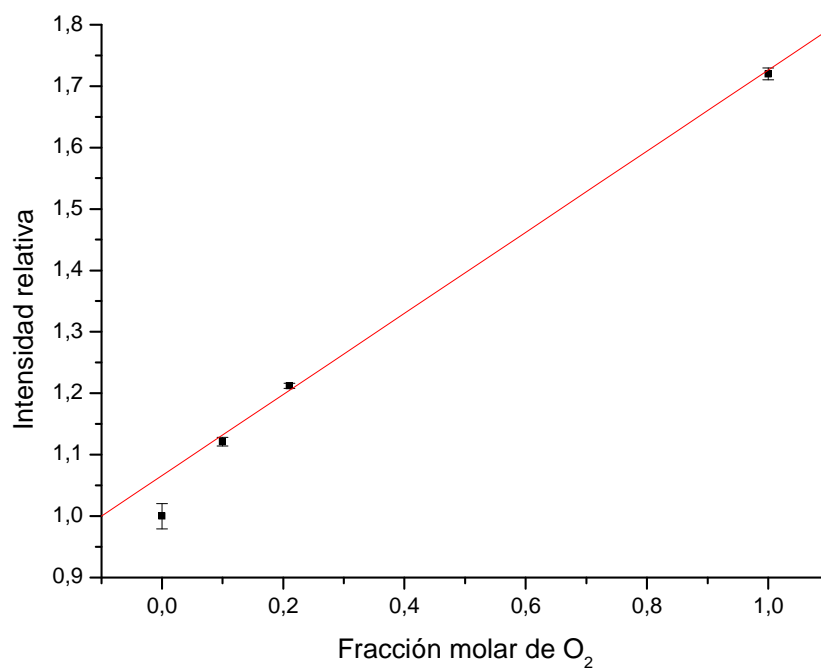
**Figura 77: Evolución áreas con aire segundo ensayo recta de calibrado con cuatro puntos**



**Figura 78: Espectros de fluorescencia con oxígeno segundo ensayo  
recta de calibrado con cuatro puntos**



**Figura 79: Evolución áreas con oxígeno segundo ensayo recta de  
calibrado con cuatro puntos**



**Figura 80: Ajuste de la intensidad de fluorescencia relativa con respecto a la concentración de  $O_2$  correspondiente al segundo ensayo**